



Synthèses et évaluations de nouveaux composés antipaludiques et antitoxoplasmoses

Mariam Traore

► To cite this version:

Mariam Traore. Synthèses et évaluations de nouveaux composés antipaludiques et antitoxoplasmoses. Microbiologie et Parasitologie. Université de Grenoble, 2012. Français. NNT : 2012GRENV041 . tel-00858336

HAL Id: tel-00858336

<https://theses.hal.science/tel-00858336>

Submitted on 5 Sep 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : **CHIMIE-BIOLOGIE**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

« **Mariam TRAORE** »

Thèse dirigée par « **Yung-Sing WONG** »

préparée au sein du **Laboratoire : Département de
Pharmacochimie Moléculaire (DPM)**

dans l'**École Doctorale Chimie et Sciences du Vivant**

Synthèses et évaluations de nouveaux composés antipaludiques et antitoxoplasmoses.

Thèse soutenue publiquement le « **07 décembre 2012** »,
devant le jury composé de :

Professeur Sylvain COTTAZ

Professeur au CERMAV Grenoble (Président)

Docteur Robert DODD

Directeur de Recherche à ICSN Gif sur Yvette (Rapporteur)

Docteur Laurent POUYSEGU

Maître de Conférences à l'IECB Bordeaux (Rapporteur)

Docteur Yung-Sing WONG

Chargé de Recherche CNRS au DPM (Membre et directeur de thèse)



Remerciements

Les travaux effectués durant cette thèse ont été réalisés au Département de Pharmacochimie Moléculaire (DPM), unité mixte CNRS/Université de Grenoble I (UMR 5063) et dirigé actuellement par le professeur Eric PEYRIN. Je tiens à le remercier pour sa disponibilité, et pour m'avoir accueillie au DPM.

Je remercie également toute l'équipe de Pharmacochimie de Substances d'Origine Naturelle (EPSON), notamment le directeur de l'équipe, le professeur Ahcène BOUMENDJEL, pour sa disponibilité et ses conseils.

Mes sincères remerciements s'adressent à mon directeur de thèse Yung-Sing WONG, pour m'avoir proposé ce sujet de thèse et pour son suivi permanent des travaux réalisés durant cette thèse. Ses conseils avisés ainsi que sa disponibilité m'ont été d'un grand soutien durant ces trois années de thèse.

Je tiens à remercier les membres du jury pour avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Je remercie également les personnes dont les compétences ont été essentielles au bon déroulement de ces travaux, Luc Choisnard, pour ses conseils en HPLC et en informatique, Antoine Fortuné, pour ses conseils en informatique, Marine Peuchmaur, Valérian Gobé et Flaviane Hilário.

Mes remerciements vont également aux différents partenaires, ayant participé aux tests biologiques. A toute l'équipe d'Henri Vial à Montpellier, Marjorie Maynardier, pour les tests sur *P. falciparum* et Sharon Wein pour les études de 'click chemistry' *in vivo*. Je remercie aussi l'équipe de Mohamed-Ali Hakimi au CHU de Grenoble, notamment Flore Mietton et Danièle Maubon pour les tests sur *T. gondii*.

Je ne saurais finir sans remercier, tous les membres du DPM pour leurs disponibilités et pour leur agréable compagnie. Pascale et Angèle pour leur disponibilité et pour leur bonne humeur.

Je remercie également les membres du comité de suivi des travaux de cette thèse : Jean-François Constant et Philippe Delair.

Je remercie aussi mes collègues de l'IUT de Chambéry pour leur accueil, durant les trois années d'enseignement contractuel (monitorat).

Enfin, je remercie le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche pour son financement. Je remercie également le ministère des affaires étrangères (France) et le ministère de l'enseignement supérieur du Mali pour m'avoir accordé la bourse d'excellence afin de réaliser des études universitaires en France.

Abréviations et notations

Ac	Acétyle
Ar	Aryle
AIBN	2,2'-Azo-bis-isobutyronitrile
Bn	Benzyle
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyle
BOP	[Benzotiazole-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium hexafluorophosphate]
(<i>t</i>)Bu	(<i>tert</i> -)Butyle
cat.	Catalytique
CH ₂ Cl ₂	Dichlorométhane
<i>m</i> CPBA	Acide <i>m</i> -chloropéroxybenzoïque
Cha	3-cyclohexylalanine
CSA	Acide camphorsulfonique
DEA	Diéthylamine
DCC	N,N-Dicyclohexylcarbodiimide
DIEA	Diisopropyléthylamine
DIP-Cl	Chloro-diisopinocampheylborane
DLP	Dilauroylpéroxyde
DMAP	4-Diméthylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EDC	1-éthyle-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
DTT	Dithiothréitol
<i>épi</i> -	Epimère
équiv.	Equivalent
Et ₂ O	Diéthyl éther
Et ₃ N	Triéthylamine
EtOAc	Acétate d'éthyle
Fmoc-Aa	Acide fluorenylméthoxyloxycarbonyl aminé
HATU	[<i>O</i> -(7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium hexafluorophosphate]
HBTU	[2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium hexafluorophosphate]
HFIP	1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol
HMPA	Hexaméthylphosphoramide
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
IC ₅₀	Concentration de produit nécessaire pour inhiber 50 % de l'activité
<i>i</i> Pr	Isopropyle
IR	Infra-rouge
LDA	Diisopropylamidure de lithium
NMO	Oxyde de <i>N</i> -méthylmorpholine
Nu	Nucléophile
PCC	Chlorochromate de pyridinium
Ph	Phényle
Phe	Phénylalanine
PIDA	Phényliodonium (III) diacétate
PIFA	Phényliodonium (III) bis (trifluoroacétate)
PPTS	Pyridinium <i>para</i> -toluènesulfonate

Pro	Proline
_p TsOH	Acide <i>para</i> -toluène sulfonique
Pr	Propyle
R _f	Rapport frontal
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
SI	Index de sélectivité
t.a	Température ambiante
TBAF	Fluorure de tétrabutylammonium
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldiméthylsilyle
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphénylsilyle
TFA	Acide trifluoroacétique
TFE	2,2,2-Trifluoroéthanol
THF	Tétrahydrofurane
TMS	Triméthylsilyle
TIPS	Triisopropylsilyle
UV	Ultra-violet

Sommaire

<u>Préambule</u>	1
<u>Chapitre I : Le paludisme et la toxoplasmose</u>	5
Introduction	6
I) Le paludisme.....	7
II) La toxoplasmose.....	10
III) Les moyens de lutte contre le paludisme et la toxoplasmose.....	14
IV) Modes d'actions des principaux composés antipaludiques et antitoxoplasmoses	19
V) Cibles potentielles et nouvelles molécules pour la conception de nouveaux médicaments.....	23
Conclusion.....	28
<u>Chapitre II : Produits naturels et conception de nouveaux médicaments antipaludiques et antitoxoplasmoses</u>	29
Introduction	30
I) Les aculéatines.....	32
II) Synthèses antérieures des aculéatines naturelles et de leurs épimères synthétiques	35
III) Les tétrapeptides cycliques inhibiteurs des histones désacétylases (HDACi).....	39
IV) Synthèses antérieures de FR235222 et analogues naturels.....	48
<u>Chapitre III : Synthèses et évaluations de nouveaux analogues des aculéatines</u>	52
Introduction	53
I) Réactions d'oxydation phénolique en cascade et tandem en synthèse	53
II) Stratégies de synthèse de nouveaux analogues des aculéatines.....	59
1) Synthèse des amomols par réaction d'oxydation phénolique en cascade <i>via</i> le cation spiro-oxocarbénium.....	60
2) Synthèse racémique et énantio pure des amomols <i>via</i> la formation du cation spiro-oxocarbénium.....	62
3) Synthèse de nouveaux analogues des amomols <i>via</i> la formation du cation spiro-oxocarbénium	64
4) Synthèse de nouveaux analogues des amomols <i>via</i> la formation du cation vinyl spiro-oxocarbénium.....	64
III) Synthèse d'un analogue hybride par réaction tandem d'oxydation phénolique utilisant la génération <i>in situ</i> de réactif à l'iode hypervalent (III) en quantité catalytique.....	67
1) Réactions désynchronisées en deux étapes	69
2) Réactions désynchronisées en une étape.....	70
IV) Synthèse de nouveaux analogues <i>via</i> la formation du cation spiro-époxonium	74
1) Réactions d'oxydation en deux étapes	75
1) Réactions d'oxydation en une étape.....	77

V) Activités biologiques et études de relations structure-activité de nouveaux analogues des aculéatines	78
VI) Des outils pour la recherche d'une cible biologique.....	79
1) Cibles et mode d'action possibles des aculéatines.....	79
2) Méthodes d'études du caractère accepteurs de Michael des composés α,β -insaturés.....	81
3) Cibles biologiques potentielles	87
4) Mode d'action par inhibition des interactions protéine-protéine	88
5) Des outils pour la recherche de la cible des aculéatines	89
Conclusion.....	89
<u>Chapitre IV : Synthèses et évaluations de nouveaux tétrapeptides cycliques</u>	90
Introduction	91
I) Stratégie de synthèse du cyclotétrapeptide	92
II) Synthèse de nouveaux cyclotétrapeptides analogues de FR235222 possédant une fonction cétone chélatante du zinc	97
1) Evaluation biologique de ces nouveaux analogues.....	100
2) L'énantiomère du cyclotétrapeptide.....	104
III) Synthèse de nouveaux composés analogues du largazole avec une fonction thioester.....	105
IV) Synthèse d'autres analogues avec l'ouverture du cycle de la proline par SmI_2	107
Conclusion.....	109
<u>Conclusion générale et perspectives</u>	110
<u>Parties expérimentales</u>	113
<u>Références bibliographiques</u>	172
<u>Communications des travaux de thèses</u>	184

Préambule

Le paludisme et la toxoplasmosé sont deux maladies causées par des parasites de la famille des apicomplexes. Ils représentent un sérieux problème de santé publique (notamment le paludisme), auquel il est urgent de trouver de nouveaux traitements efficaces. Le projet des travaux effectués au cours de cette thèse sur la synthèse de nouveaux composés antipaludiques et antitoxoplasmoses est axé sur deux thématiques de recherche, qui sont d'une part la synthèse de composés spiro-cycliques antipaludiques, analogues de produits naturels, les aculéatines (Fig 1), et d'autre part, la synthèse modulable de nouveaux cyclotétrapeptides antitoxoplasmoses, analogues de FR235222.

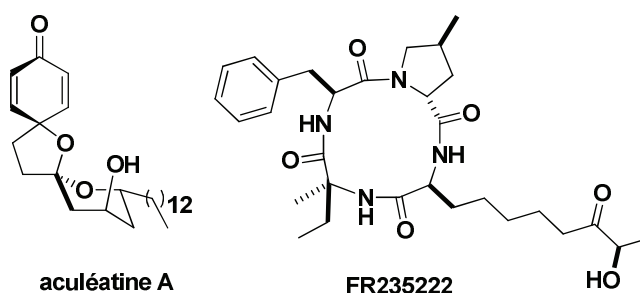
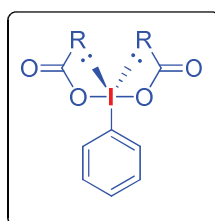


Fig 1 : produits naturels antipaludiques et antitoxoplasmoses

Dans la première thématique, notre étude s'est concentrée au niveau des réactions de spiro-annélation oxydante (Schéma 1) induite par des réactifs à l'iode hypervalent (III) (Fig 2). Ces réactifs sont de plus en plus appréciés en synthèse organique pour leur stabilité, et leur utilisation dans des conditions douces. Nous nous sommes intéressés aux composés de type [bis(acyloxy)iodo]benzène, en particulier au PIDA [phényliodonium (III) diacétate] et au PIFA [phényliodonium (III) bis(trifluoroacétate)].



PIDA : R = CH₃
 PIFA : R = CF₃

Fig 2 : réactifs à l'iode hypervalent (III) PIDA et PIFA

- ✓ Afin d'obtenir rapidement de nouveaux analogues des aculéatines, nous avons opté pour une stratégie de réactions en cascade en 'un pot', *via* la formation d'intermédiaires réactionnels qui n'avaient jusqu'à présent pas été élucidés ou réalisés. Lors de la réaction d'oxydation

phénolique par les réactifs à l'iode hypervalent, le cation phénoxonium **1** formé (Schéma 1) peut être piégé par différentes entités, pouvant aboutir à la formation de nouvelles espèces électrophiles réactives. Les intermédiaires générés peuvent être eux-mêmes piégés de façon intra ou intermoléculaire lors de différentes réactions en cascade, jusqu'à aboutir à un produit final, analogue des aculéatines. Nous nous sommes intéressés à la formation d'intermédiaires spiro-oxocarbénium ou vinyl-spiro-oxocarbénium **2** par piégeage (respective) d'une fonction carbonyle ou d'une fonction carbonyle α,β -insaturée. Nous avons aussi exploité la capacité du phénoxonium à piéger une fonction époxyde, afin de générer un nouvel intermédiaire réactionnel spiro-époxonium **5**. Les conditions réactionnelles nécessaires pour déclencher des processus de réactions en cascade *via* la formation de ces différents intermédiaires seront exposées dans les travaux de cette thèse.

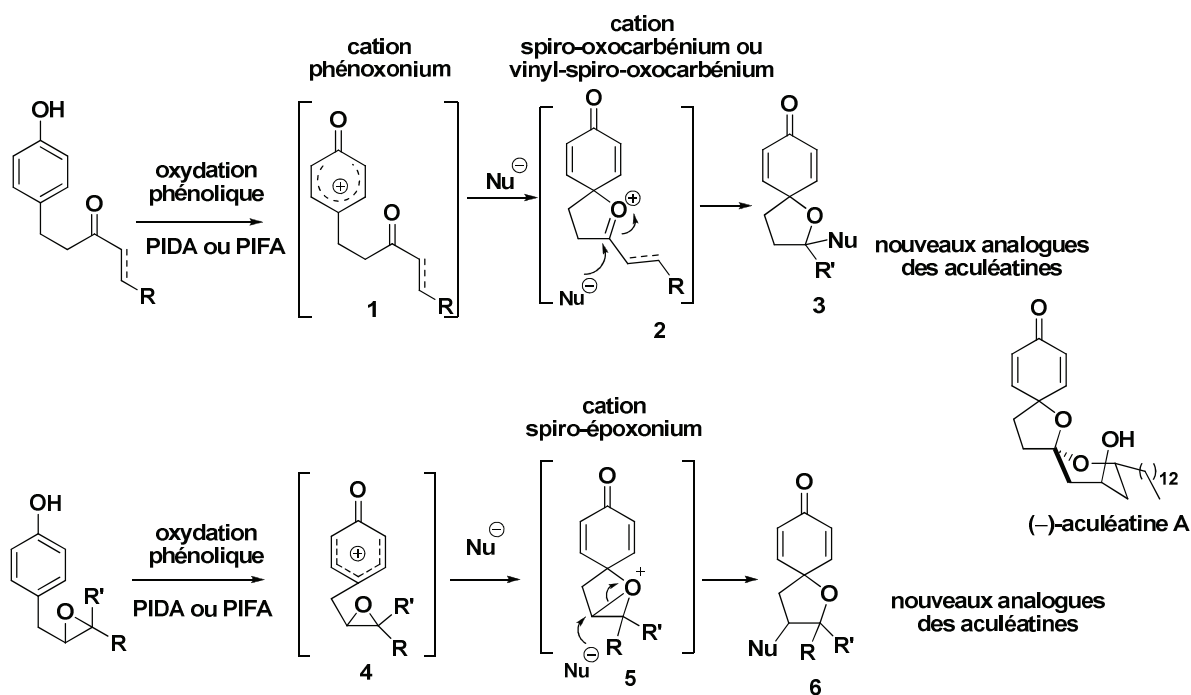


Schéma 1 : réactions en cascade d'oxydation phénolique

- ✓ Les travaux réalisés au cours de cette thèse touchent également au concept de réactions tandem d'oxydation phénolique, par activation simultanée d'au moins deux fonctions au sein de la même molécule. L'enjeu de cette stratégie de synthèse est de trouver les conditions optimales afin d'éviter des interférences entre les différents intermédiaires des deux réactions d'oxydation simultanées en 'un pot'. Les méthodes développées afin d'obtenir l'analogue hybride (Schéma 2) par réactions tandem désynchronisées en un 'pot' seront également présentées.

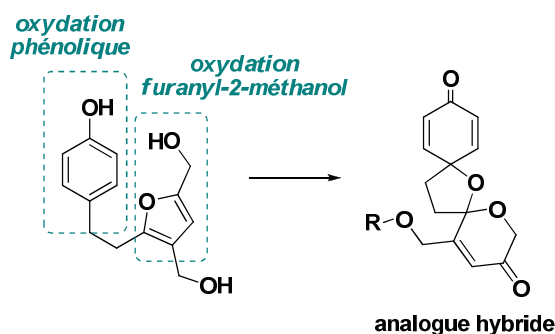


Schéma 2 : réaction tandem d'oxydations phénolique-furanyl-2-méthanol

La deuxième thématique développée durant les travaux de cette thèse se concentre sur la diversification d'une librairie de nouveaux composés cyclotétrapeptidiques, en privilégiant un accès à la fois modulable et court. Des réactions de chimie radicalaire avec les xanthates **7** et les thioacides **8** (Schéma 3) ont été mises en place afin d'obtenir une grande diversité de cyclotétrapeptides en peu d'étapes. Afin de diversifier le squelette cyclopeptidique et d'obtenir un élargissement du cycle en seulement une étape, une méthode de réduction de liaison C-N en présence de SmI_2 a également été étudiée. Les différentes stratégies des synthèses développées, ainsi que les résultats de l'évaluation biologique des différents analogues seront exposés.

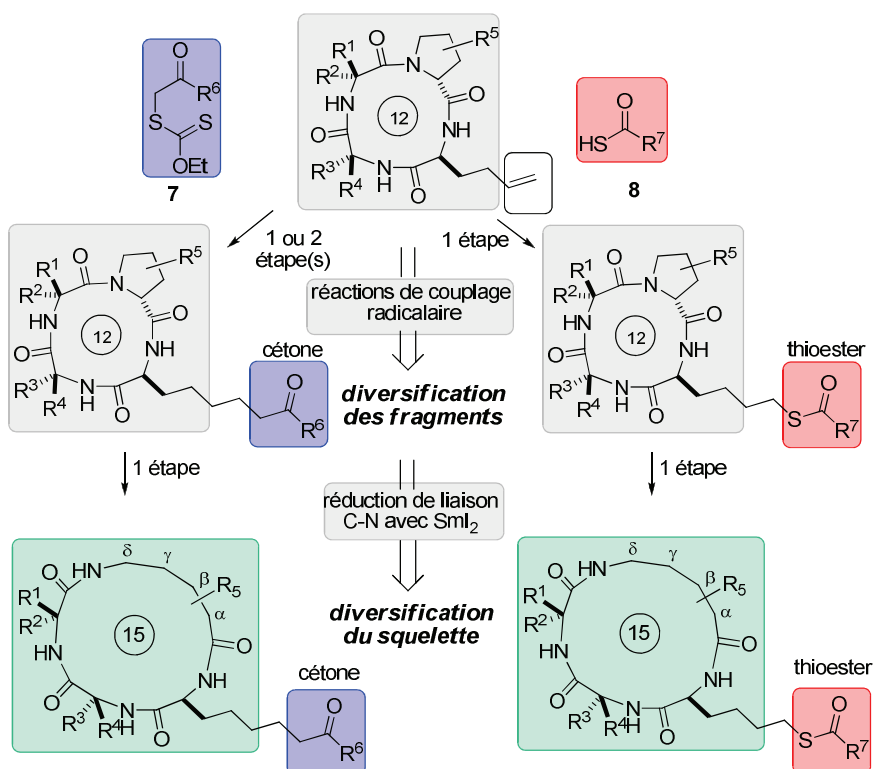


Schéma 3 : synthèses modulables de nouveaux cyclopeptides

Finalement, ce manuscrit s'articule autour de quatre chapitres :

- ❖ Dans un premier temps, plusieurs rappels bibliographiques seront effectués sur le paludisme et sur la toxoplasmose. Les formes cliniques, les données épidémiologiques, ainsi que les moyens thérapeutiques seront exposés.
- ❖ Dans un deuxième chapitre, une analyse de la littérature en rapport avec les deux familles de produits d'origine naturelle, les aculéatines (antipaludiques) et les tétrapeptides cycliques (antipaludiques et antitoxoplasmoses), sera effectuée. Une partie bibliographique exposera les synthèses antérieures de ces deux familles de produits naturels.
- ❖ Une troisième partie sera consacrée aux résultats des travaux de synthèse de nouveaux analogues, naturels et synthétiques des aculéatines : plusieurs paramètres ont été étudiés en vue d'établir des études de relations structure-activité.
- ❖ Le quatrième chapitre rassemble les résultats des travaux de synthèses de nouveaux tétrapeptides cycliques. Les propriétés biologiques des nouveaux analogues obtenus, ainsi que les caractéristiques structurales nécessaires à l'optimisation de l'activité antitoxoplasmoses.

Chapitre I :
Le paludisme et
La toxoplasmose

Introduction

Plasmodium falciparum, l'agent étiologique du paludisme et *Toxoplasma gondii*, l'agent responsable de la toxoplasmose, appartiennent à la grande famille des apicomplexes qui sont des organismes unicellulaires tous parasites des métazoaires. Le phylum des apicomplexes est constitué de plus de 4000 espèces de protistes parasites, dérivant d'un plaste non photosynthétique. Présents dans les cellules eucaryotes végétales, les plastes sont des organites limités par deux membranes, les plus connus sont les chloroplastes, intervenant dans la photosynthèse, les amyloplast, spécialisés dans le stockage d'amidon, ou encore les chromoplastes, qui donnent leurs couleurs aux fruits. Les apicomplexes possèdent une combinaison caractéristique d'organelles appelée le complexe apical qui a donné son nom au phylum. Ce complexe est situé dans la zone antérieure de la forme invasive et comprend trois organites sécrétoires, les micronèmes, les rhoptries et des anneaux polaires constituant les microtubules^[1] (Fig I.1). Les contenus de ses organelles spécialisés sont déchargés séquentiellement au cours de l'invasion. Ce processus contribue à l'élaboration d'un compartiment membranaire (la vacuole parasitophore) au sein duquel se développent les parasites. Par ailleurs, les parasites apicomplexes présentent deux organites contenant des éléments génétiques extranucléaires, qui sont la mitochondrie et l'apicoplaste (un plaste vestigial).

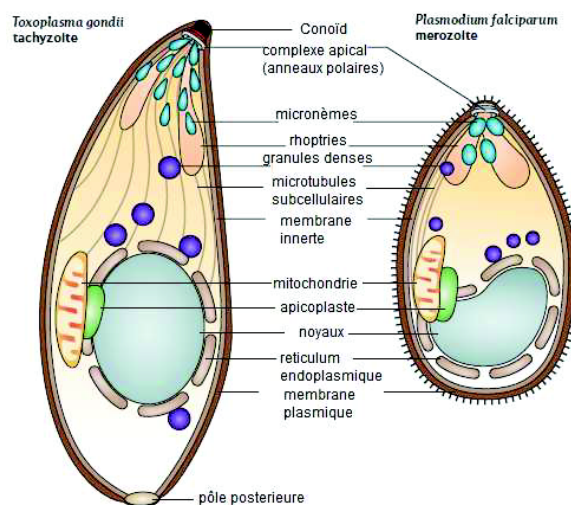


Fig I.1 : caractéristiques structurales des apicomplexes *T. gondii* et *P. falciparum*^[1]

Dans ce chapitre sera présentée dans un premier temps l'infection la plus meurtrière causée par les apicomplexes qui est le paludisme, ensuite sera exposée la toxoplasmose une infection opportuniste très répandue dans le monde. Etant donné que les agents responsables de ces deux parasitoses sont de la même famille, des composés antipaludiques peuvent potentiellement agir en tant que composés antitoxoplasmoses et réciproquement.

I) Le paludisme

↪ 1) Généralités

Le paludisme (du latin *palus*, *paludis*, marais), ou malaria (de l'italien *mal aria*, mauvais air), est la maladie parasitaire la plus répandue dans le monde. Pour la moitié de la population mondiale (3,3 milliards de personnes), le paludisme demeure l'un des pires fléaux en matière de santé publique. Selon les estimations du rapport 2011 de l'Organisation Mondiale de la Santé,^[2a] 216 millions d'épisodes palustres ont été enregistrés en 2010, dont 81% en Afrique. Le nombre des décès dus au paludisme a été estimé à 655 000, et 91% des cas concernent toujours le continent Africain. Sur ce continent, le paludisme est la première cause de mortalité et de morbidité. A l'échelle mondiale, ce sont les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans (86% des décès) qui sont les cibles les plus vulnérables.

Les pays d'Europe, non endémiques, connaissent le paludisme d'importation. En 2011, la France a enregistré 3560 cas importés, soit une baisse de 25% par rapport à 2010, grâce aux méthodes préventives.

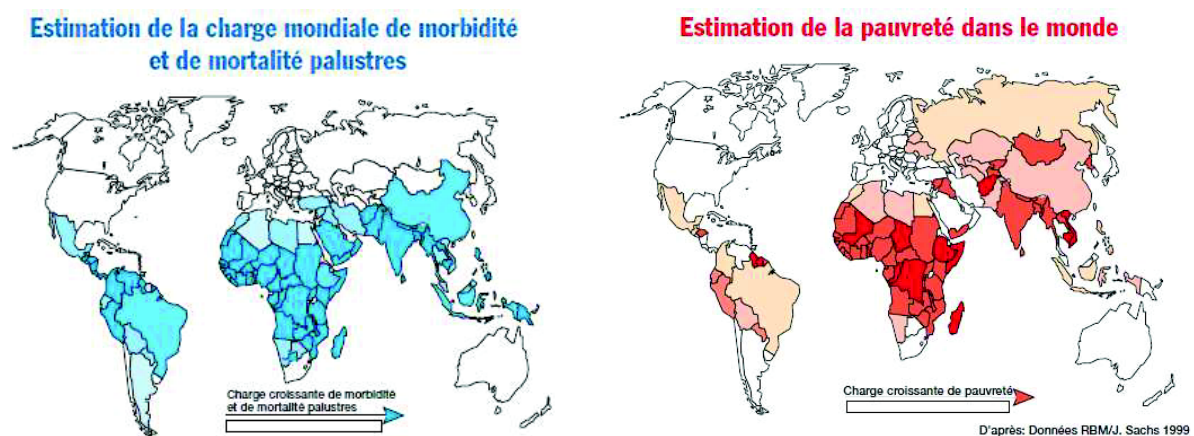


Fig I.2 : répartition géographique du paludisme dans le monde (données Roll Back Malaria 2010^[2b])

En plus des conséquences humaines, le paludisme est à la fois une maladie due à la pauvreté et une cause de pauvreté (Fig I.2). Les économistes attribuent au paludisme un déficit de croissance annuel pouvant atteindre 1,3% dans certains pays d'Afrique. Au fil des années, l'écart se creuse entre le PIB des pays selon qu'ils sont touchés ou non par le paludisme et c'est la croissance économique de toute la région qui est pénalisée. Le coût direct du paludisme recouvre les dépenses individuelles et publiques pour la prévention et le traitement de la maladie. Dans les pays fortement impaludés, ces dépenses peuvent représenter jusqu'à 40% des dépenses de santé publique, 30-50% des admissions hospitalières et jusqu'à 50% des consultations externes. Le coût indirect du paludisme inclut la perte de productivité

ou de revenu associée à la maladie ou au décès. Le paludisme entrave également la scolarisation et le développement social des enfants en raison de l'absentéisme et des atteintes neurologiques permanentes, le ralentissement du flux d'échanges commerciaux des investisseurs étrangers et du tourisme.

Conscients du fardeau que le paludisme peut avoir sur le développement économique, les gouvernements d'Afrique consacrent désormais davantage de ressources (Tableau I.1) à la lutte antipaludique conformément à la déclaration d'Abuja en Avril 2000.^[3] L'objectif de cette déclaration est de réduire de 50% la mortalité et la morbidité palustre en 2010, selon une action globale de l'initiative « Faire Reculer le Paludisme » FPR (Roll Back Malaria) lancée par les dirigeants de l'OMS, l'UNICEF, PNUD et la BM. Le bilan de cette action est positif (Tableau I.1), essentiellement grâce à une forte campagne de sensibilisation sur les méthodes de préventions, notamment l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides. L'incidence estimée du paludisme a réduit de 17% entre 2000 et 2010, les taux de mortalité ont diminué de 26%. Ces chiffres restent cependant inférieurs aux objectifs de la déclaration d'Abuja pour 2010.

	2000 - 2006	2007 -2010	2010 -2015
Taux de contamination annuel	400 millions	247 millions	
Taux de mortalité par an	1, 7 à 2,7 millions	0,7 millions	
Besoins financiers	< 100 millions \$	2,5 milliards \$	5 milliards \$

Tableau I. 1 : rapport 2011 de l'OMS sur le paludisme

↳ 2) *Plasmodium*, agent du paludisme

L'agent pathogène du paludisme (*Plasmodia*) a été découvert en 1880 à l'hôpital militaire par un médecin de l'armée française, A. Laveran, qui reçut le Prix Nobel en 1907 pour cette découverte. En 1897, le médecin anglais Ronald Ross a prouvé que les moustiques étaient les vecteurs du paludisme aviaire. Ensuite, le scientifique italien Giovanni Battista Grassi montra qu'il en était de même pour le paludisme humain. Parmi plus d'une centaine d'espèces de *Plasmodia*, seules quatre espèces parasitent l'homme : *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. falciparum*, de loin la plus dangereuse (80% des cas mortels).

❖ le cycle de développement du *Plasmodium*

Les *Plasmodia* ont un cycle de vie complexe qui passe par différentes phases et fait intervenir trois acteurs qui sont : le parasite (*Plasmodium*), un vecteur (l'anophèle femelle) où a lieu la reproduction sexuée et un hôte intermédiaire (un vertébré, l'homme dans le cas présent) où a lieu la multiplication asexuée (Fig I.3).

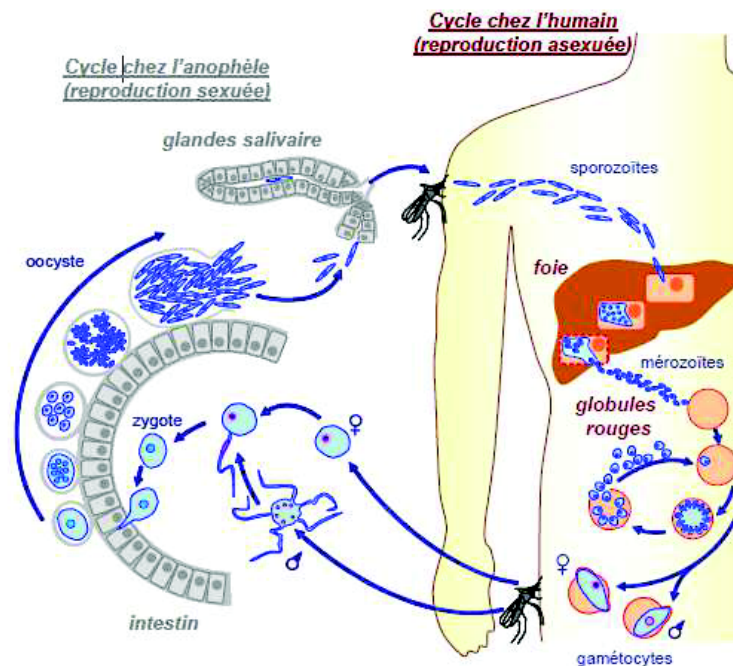


Fig I.3 : cycle de transmission du paludisme

a) Le cycle chez l'homme

Le cycle chez l'homme peut être subdivisé en deux parties : le cycle hépatocytaire et le cycle intra-érythrocytaire.

Le cycle hépatocytaire ou exo-érythrocytaire commence lors de la piqûre par l'anophèle femelle. L'anophèle injecte dans le tissu sous cutané de l'hôte le parasite sous forme de sporozoïtes, formes infectieuses mobiles, contenues dans la salive anticoagulante du moustique. Les sporozoïtes circulent dans le sang et atteignent le foie en quelques minutes où ils s'y multiplient par schizogonie (divisions cellulaires) pendant dix à quinze jours. Pour certaines espèces n'incluant pas *P. falciparum*, l'infection hépatique peut devenir latente et permettre au parasite de survivre longtemps dans l'organisme, alors qu'il aura disparu du sang. C'est ce qui explique les rechutes à longue échéance des infections causées par les espèces *P. vivax* et *P. ovale*.

Le cycle intra-érythrocytaire commence après éclatement de l'hépatocyte, les sporozoïtes sont libérés sous forme de mérozoïtes. Ceux-ci circulent dans le sang et vont infecter les globules rouges, où ils se

reproduisent de manière asexuée par schizogonie dans les érythrocytes. Les globules rouges parasités finissent par éclater et libèrent les mérozoïtes qui vont gagner d'autres globules rouges pour continuer leur prolifération. Ce sont ces éclatements brutaux et synchrones à l'issue de chaque cycle qui sont à l'origine des accès de fièvre. La destruction des hématies provoque une anémie et, dans le cas du paludisme cérébral, la mort intervient à la suite d'une obstruction des vaisseaux sanguins du cerveau par les globules rouges infectés.^[4] Après environ une semaine, induit par certains facteurs de stress, une faible proportion de mérozoïtes va se différencier en gamétocytes mâles et femelles. A la suite d'une nouvelle piqûre par un moustique, les gamétocytes sont ingérés avec le repas sanguin.

b) Le cycle chez l'anophèle

Le cycle chez l'anophèle commence par la piqûre d'une personne malade par le moustique vecteur. Dès l'arrivée dans l'estomac de l'anophèle, les gamétocytes se transforment en gamètes. Les gamétocytes mâles subissent l'exflagellation leur permettant d'acquérir la mobilité tandis que les gamétocytes femelles se développent en macrogamètes. Après fécondation, le zygote obtenu se transforme en ookinète (oo = oeuf et kino = mobile) qui se fixe sous la paroi stomacale externe en formant l'oocyste. Cette brève phase diploïde s'achève par une division méiotique suivie par plusieurs milliers de mitoses conduisant au développement de sporozoïtes. Après éclatement de l'oocyste, les sporozoïtes libérés dans l'hémolymph migrent préférentiellement vers les glandes salivaires du moustique et un autre cycle recommence.

II) La toxoplasmose

1) Généralités

Tout comme le paludisme, la toxoplasmose (du grec *toxon*, arc et *plasma*, forme) est une maladie parasitaire dont l'agent est un protozoaire de forme arqué, *Toxoplasma gondii*. Présente partout dans le monde, la toxoplasmose est l'infection parasitaire la plus commune chez les animaux à sang chaud, mammifères et oiseaux. L'homme s'infecte le plus souvent par ingestion de kystes contenus dans les viandes mal cuites, de la charcuterie crue ou d'oocystes souillant les fruits et légumes mal lavés. Les trois formes cliniques sont : la toxoplasmose acquise, en général inapparente ou bénigne, la toxoplasmose congénitale qui peut être à l'origine de fœtopathies graves, et la toxoplasmose de l'immunodéprimé. Touchant un tiers de la population mondiale, sa prévalence chez les humains varie d'une région à l'autre avec une grande variabilité (de 7 à 80%) essentiellement liée aux habitudes alimentaires des différents pays et à la température moyenne des différentes zones géographiques du globe. L'incidence de la toxoplasmose est difficile à évaluer puisque la plupart des infections restent asymptomatiques. Elle est faible en Asie ou en Amérique (inférieure à 30%), plus élevée en Afrique

ou en Europe du Sud (supérieure à 60%). En France, la séroprévalence est en baisse. Actuellement elle est de 50%. Chez l'immunodéprimé, la toxoplasmose inaugurale du SIDA est en nette régression avec une incidence de 250 par an depuis la mise en place des protocoles de HAART.^[5] En revanche, le nombre de toxoplasmoses liées aux greffes d'organes solides ou aux greffes de moelle est en augmentation,^[6] elle est l'infection parasitaire la plus fréquente chez le transplanté. Sa prévalence chez les femmes enceintes a été estimée à 2700 par an soit environ 3 pour 1000 grossesses, parmi lesquelles 600 toxoplasmoses congénitales, aboutissant à la naissance de 175 enfants symptomatiques^[5] (choriorétinites essentiellement, hydrocéphalies).

➤ 2) *Toxoplasma*, agent de la toxoplasmose

L'agent responsable de la toxoplasmose est *Toxoplasma gondii* qui est la seule espèce connue à ce jour. En 1908, Nicolle et Monceaux découvrent le parasite^[7] dans les tissus d'un rongeur (*Ctenodactylus gondii*). Ce n'est que dans les années 1920-1930 qu'apparaissent les premières descriptions de cas de toxoplasmose humaine. En 1939, Wolf et son équipe exposent la nature congénitale de la maladie après avoir isolé le parasite chez un enfant atteint âgé d'un mois. Avec la mise au point des premiers tests sérologiques, dans les années 1940, l'importance de la prévalence de la toxoplasmose humaine a pu être mise en évidence. Dans les années 1960, Desmonts définit le rôle dans la transmission de la maladie de la consommation de viande insuffisamment cuite. Le rôle du chat comme hôte définitif du parasite n'a été compris que plus tardivement en 1965. Hutchison réussit à transmettre le parasite à une souris en la nourrissant d'excréments de chats, puis, en 1970, Frenkel observe le parasite sous forme d'oocyste (stade de développement sexuel) dans l'intestin du chat. Le parasite *T. gondii* peut exister sous trois formes :

- La forme végétative en arc (tachyzoïte), elle se multiplie dans les cellules de l'hôte (principalement dans la lignée macrophagique). Les tachyzoïtes sont les formes du parasite à l'origine des lésions cliniques.
- Le kyste est sphérique ou ovoïde, il résulte de nombreuses multiplications d'une forme végétative qui a colonisé une cellule hôte. Le kyste contient plusieurs centaines ou milliers de bradyzoïtes, formes à division lente, non pathogènes. Les kystes sont localisés principalement dans le tissu nerveux et les muscles, et représentent la principale forme de dissémination du parasite. Les kystes persistent dans ces tissus jusqu'à la mort de l'hôte. La production d'antigènes permet d'entretenir l'immunité. Ces kystes, très résistants, peuvent survivre

plusieurs jours à température ambiante. Leur destruction peut se faire par exposition à des températures extrêmes (-13°C ou 67°C) ou à des irradiations γ .

- L'oocyste est le fruit de la multiplication sexuée du parasite dans l'intestin de l'hôte définitif représenté souvent par le chat. Il peut être responsable de la contamination humaine par les aliments souillés par les fèces des chats. Il est particulièrement résistant, même à certains détergents, et peut ainsi survivre plusieurs mois dans le sol. Cependant, la chaleur, le froid et la dessiccation peuvent conduire à sa destruction.

❖ le cycle de développement de *T. gondii*

Le cycle de développement de *T. gondii* est complexe dans la diversité des formes parasitaires et des hôtes impliqués. Il possède une reproduction sexuée, son cycle fait intervenir généralement le chat comme hôte définitif et tous les animaux homéothermes comme hôte intermédiaire. La toxoplasmose est également une maladie à trois acteurs : le parasite (*Toxoplasma gondii*), l'homme (l'hôte intermédiaire) et le félin (l'hôte définitif).

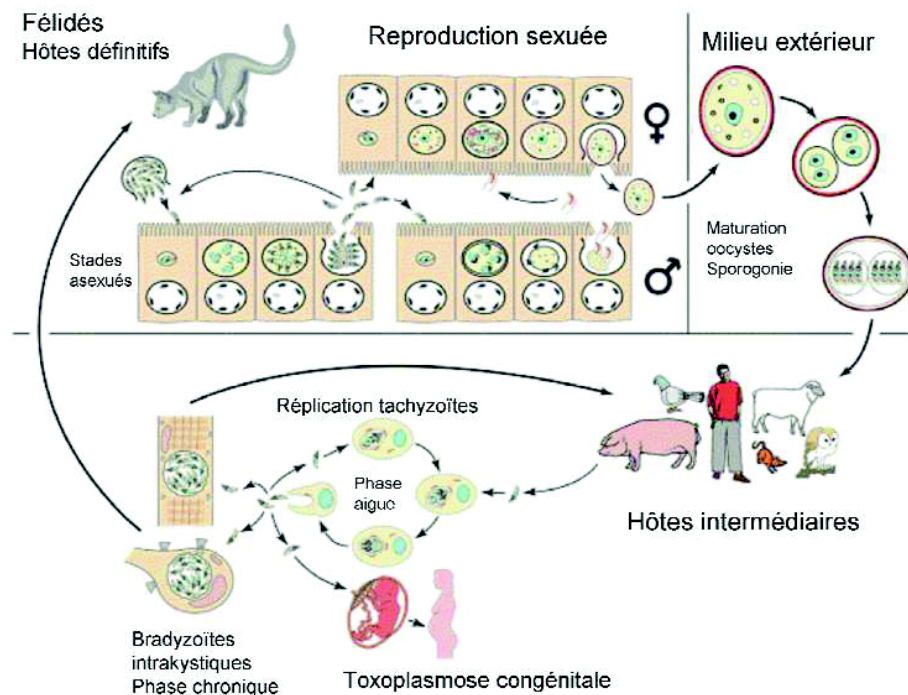


Fig I.4 : cycle de transmission de la toxoplasmose

a) Cycle asexué chez l'homme (ou autre mammifère ou oiseau)

Le cycle asexué englobe les deux premières formes du parasite, tachyzoïte et bradyzoïte, et débute par l'ingestion d'oocystes ou de kystes : les kystes sont contenus dans la viande crue ou peu cuite ; les oocystes sont présents à la surface de la terre ou des plantes après avoir été souillées par les déjections de chats. Chez l'hôte intermédiaire, les oocystes libèrent les sporozoïtes qui pénètrent l'épithélium intestinal et se différencient en tachyzoïtes. Ces derniers se multiplient rapidement, de façon asexuée dans les cellules épithéliales de l'intestin puis dans les macrophages situés au niveau de la paroi intestinale de l'hôte : il s'agit de la phase septicémique. Les macrophages servent alors de véhicules jusqu'à la circulation sanguine où les parasites seront disséminés après rupture de la cellule hôte et envahiront de nombreux tissus cellulaires. La forme tachyzoïte est responsable de la réponse inflammatoire et de la destruction des tissus, à l'origine des manifestations cliniques de la maladie. Ces manifestations restent généralement très faibles et la maladie passe souvent inaperçue pour la personne contaminée. Après 7 à 10 jours, la réponse immunitaire de l'hôte force le parasite à s'enkyster dans des organes à faible réponse immunitaire (oeil, cerveau, muscles...). Ces kystes peuvent ensuite survivre jusqu'à la mort de l'hôte : l'infection est alors dite chronique. La réactivation^[8] de la maladie (conversion tachyzoïte-bradyzoïte) n'a généralement pas lieu, sauf dans le cas des personnes immunodéprimées (contamination par le SIDA ou suivi de traitement après transplantation).

b) Cycle sexué chez les félins hôtes définitifs

Le cycle sexuel débute deux jours après l'ingestion des kystes par le félin (chat, jaguar, cougar etc...). Les bradyzoïtes libérés pénètrent les cellules épithéliales de l'intestin grêle et se multiplient par reproduction asexuée pour former plusieurs générations de schizontes ; les mérozoïtes relâchés par les schizontes sont à l'origine de la formation des gamètes mâles et femelles. Après fertilisation et multiplication du parasite, les cellules épithéliales infectées éclatent et libèrent les oocystes dans le lumen intestinal. Lorsque ceux-ci sont rejetés dans le milieu extérieur avec les excréments, ils ne sont pas infectieux : la sporulation s'effectue dans les jours qui suivent, généralement de 1 à 5 suivant les conditions de température et d'aération. Les oocystes sporulés contiennent deux sporocystes ellipsoïdaux contenant eux-mêmes chacun quatre sporozoïtes. Un nouveau cycle peut alors débiter. La transmission directe (ou verticale) d'un hôte intermédiaire à un autre sans passer par le cycle sexuel est une caractéristique toute particulière, non retrouvée dans le cas de *Plasmodium* et non habituelle chez les apicomplexes.

III) Les moyens de lutte contre le paludisme et la toxoplasmose

Les luttes dirigées contre les parasites *T. gondii* et *P. falciparum* sont diverses et peuvent se révéler efficaces avant d'être confrontées aux problèmes de résistance développée par les parasites. Dans le cas du paludisme, la lutte peut aussi être dirigée contre le vecteur (moustique).

↳ Méthodes préventives

a) Vaccins antipaludiques et antitoxoplasmoses

Actuellement, il n'existe aucun vaccin pour l'homme, que se soit contre le paludisme ou contre la toxoplasmose, bien que plusieurs projets dont certains très prometteurs (dans le cas du paludisme) soient en cours d'étude.^[9] Cependant, un vaccin contre la toxoplasmose est actuellement commercialisé pour usage vétérinaire, il s'agit d'un vaccin faisant intervenir la souche atténuée S48 utilisé en Europe et en Nouvelle-Zélande pour éviter l'avortement des brebis. Ce vaccin ne peut pas être applicable à l'homme pour différentes raisons : l'immunisation reste de courte durée, de plus, une réactivation des bradyzoïtes en une forme pathogène n'est pas à exclure. Finalement, pour limiter ce risque, la conception de vaccins à base de parasites « entiers » est une alternative mais ne constitue pas l'essentiel des recherches dans le domaine. Dans le cas des vaccins basés sur des antigènes, les premières études^[10] se sont focalisées sur des molécules exprimées pendant la phase aiguë de l'infection : il s'agit essentiellement de vaccins à base de protéines recombinantes ou d'ADN utilisant des antigènes de surface (SAG1), des antigènes des granules denses^[11] (GRA1), des protéines des rhoptries (ROP2) ou des micronèmes^[12] (MIC3).

b) la lutte dirigée contre le moustique

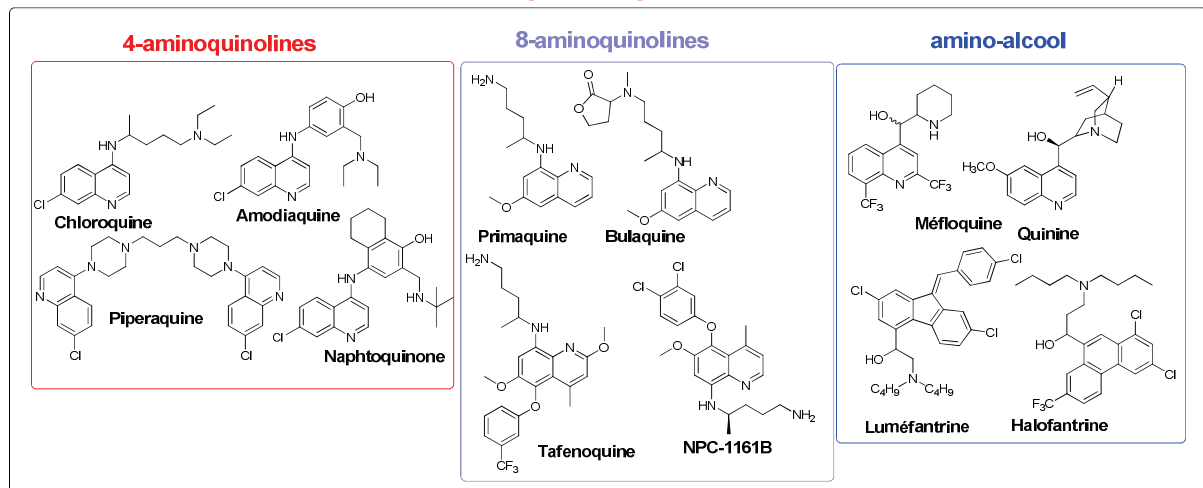
Dans le but d'éradiquer le moustique, l'OMS avait lancé dans les années 1950-1960 une grande campagne sur l'utilisation intensive d'insecticides, tel que le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT). Cette stratégie a été abandonnée en 1969, car l'utilisation intensive d'insecticides a favorisé l'apparition de souches de moustiques résistantes. D'autres mesures ont été privilégiées depuis, telles que l'assainissement, la lutte anti-larvaire, la dispersion d'anophèles mâles stériles dans la nature, interventions génétiques sur les espèces vectrices. Mais ces mesures ne sont efficaces que sur un territoire limité. Il est très difficile de les appliquer à l'échelle d'un continent tel que l'Afrique par exemple. En attendant l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide perméthrine ou de dérivés de pyréthrine reste la seule méthode de prévention efficace et accessible aux populations.

↳ 2) Méthodes curatives

a) les principaux médicaments antipaludiques et antitoxoplasmoses

Le traitement médicamenteux est la seule méthode qui s'est avérée efficace dans la lutte contre le paludisme et la toxoplasmose. Les principes actifs des principaux médicaments antipaludiques et antitoxoplasmoses peuvent être regroupés selon leurs structures chimiques et propriétés biologiques (Fig I.5). Les composés à la fois antipaludiques et antitoxoplasmoses ont été regroupés en 5 grandes familles^[13] qui sont : les endopéroxydes dérivés de l'artémisinine, les sulfonamides, les biguanides, les naphtoquinones et les antibiotiques. Les dérivés quinoléiques ont été classés parmi les composés spécifiquement antipaludiques du fait de leur mode d'action ciblant principalement l'hème des érythrocytes. D'autres composés tels que la monensine (utilisée dans la médecine vétérinaire) ou le PABA sont essentiellement des composés antitoxoplasmoses.

antipaludiques



antipaludiques et antitoxoplasmoses

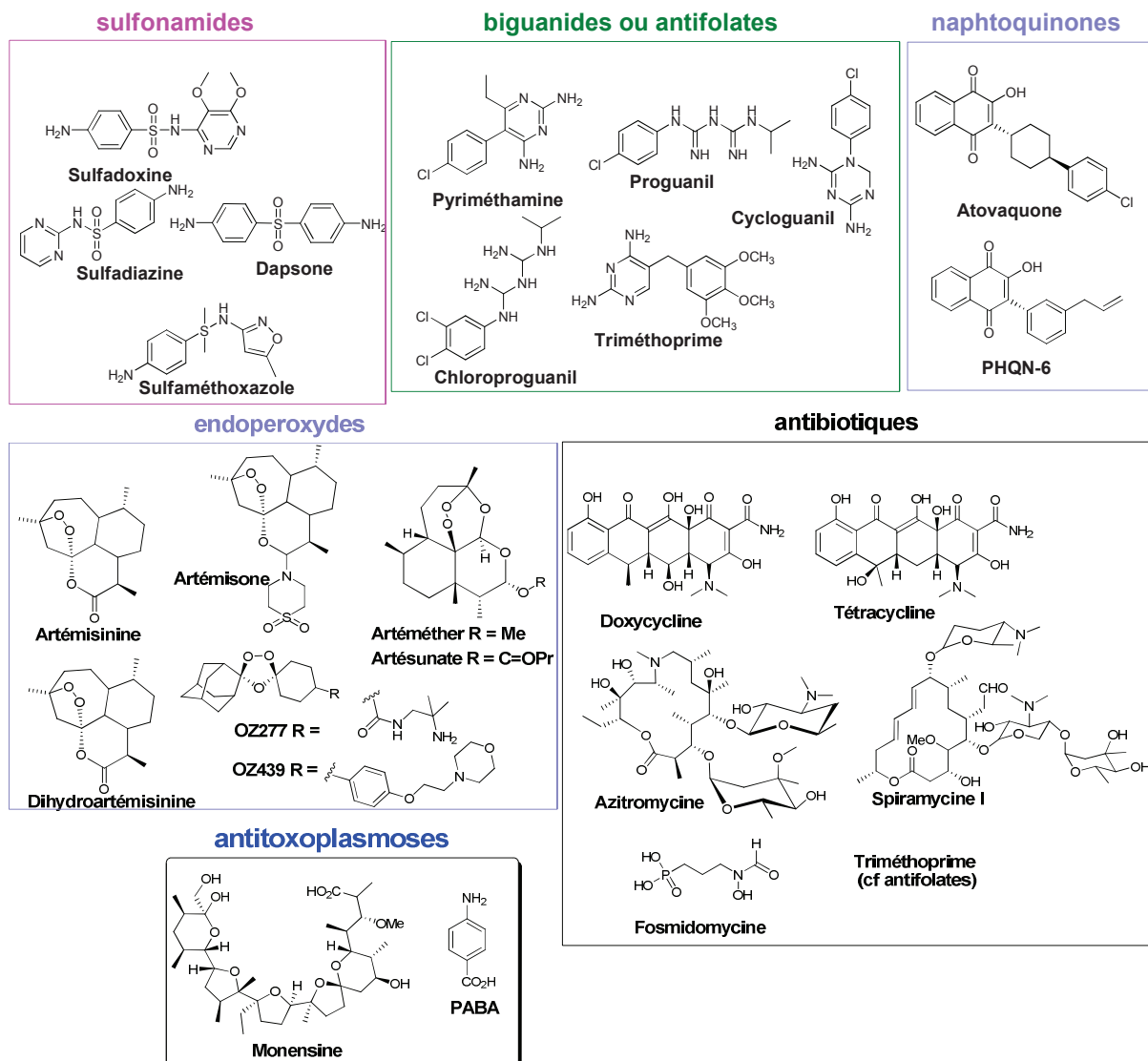


Fig I.5 : principes actifs qui sont devenus des médicaments à usage médical ou vétérinaire

b) Traitements antipaludiques

Pendant longtemps, les traitements antipaludiques ont fait appel à des molécules très efficaces à faible coût et sans effets secondaires, comme la chloroquine de la famille des 4-aminoquinolines, mais sa prescription sans contrôle a favorisé l'émergence de souches résistantes. Aujourd'hui, les soins à base de chloroquine échouent à plus de 25% dans la plupart des pays africains touchés par le paludisme. Face aux problèmes de résistance à la chloroquine, le Fansidar qui est l'association de la sulfadoxine (sulfamides) et de la pyriméthamine (antifolates) a été utilisé. Il a fallu moins de cinq ans aux parasites pour développer des résistances à ce dernier. L'artémisinine (endopéroxydes) et ses dérivés ont pris la relève à partir des années 1972, mais n'ont pas échappé aux problèmes de résistance développée principalement par *P. falciparum* qui sont apparus en 2005. En 1995, les combinaisons thérapeutiques avec l'artémisinine ont fait leurs apparitions. Au vu des résultats efficaces des combinaisons thérapeutiques, en 2000, l'OMS a demandé à tous les laboratoires pharmaceutiques de cesser immédiatement la commercialisation et la vente des antipaludiques ne comportant comme seul principe actif que l'artémisinine pour le traitement du paludisme simple, en raison du risque d'apparition de pharmaco-résistance chez les parasites. Elle leur recommande de ne commercialiser l'artémisinine que dans des associations thérapeutiques, les ACT (Artemisinin-based combination therapy : combinaisons thérapeutique à base d'artémisinine). Pendant longtemps, les ACT sont restés le traitement véritablement efficace sans effet secondaire. L'inconvénient de ce traitement ACT restait cependant son prix, inaccessible pour de nombreux pays en développement. Les derniers antipaludiques sont tous associés en bithérapie au moins, tels que l'atovaquone-proguanil (MALARONE®), l'arthéméter-luméfantrine (COARTEM®, RIAMET®), chlorproguanil-dapsone (LAPDAP®), ainsi que d'autres associations, toujours avec un dérivé de l'artémisinine, à cause de leur rapidité d'action, de leur impact sur la transmission et l'absence de chimiorésistance de *P. falciparum* à l'artésunate-méfloquine, à l'artésunate-amodiaquine et à l'artésunate-SP. Les médicaments prescrits en prophylaxie sont les associations chloroquine-proguanil (SAVARINE®) et atovaquone-proguanil MALARONE®. Malheureusement depuis 2006, des résistances aux ACT sont de plus en plus fréquentes (voir échelle d'apparitions des résistances, Fig I.6). Depuis mars 2007, un nouveau médicament, l'ASAQ (artésunate et amodiaquine) a été mis sur le marché. Simple d'utilisation, non protégé par un brevet et moins cher que les ACT, l'ASAQ représente une grande avancée dans la lutte contre le paludisme. Ce médicament, qui est issu de la recherche menée en partenariat par Sanofi-Aventis et la DNDi (Drugs for Neglected Diseases initiative), fut le premier à être mis directement dans le domaine public pour un accès le plus large possible dans les pays pauvres.

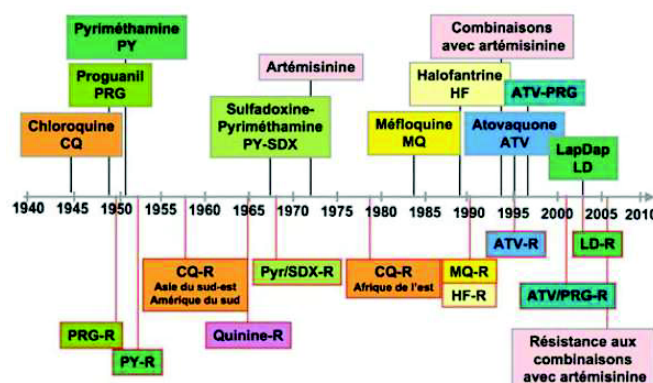


Fig I.6 : introduction des médicaments sur le marché et apparitions des résistances^[14]

c) Traitements antitoxoplasmoses

Aucun traitement n'est utilisé lorsque la toxoplasmosé touche des personnes immunocompétentes, les traitements existant contre la toxoplasmosé reposent sur un nombre très limité de médicaments qui visent à supprimer la prolifération du parasite, pendant la phase aiguë, jusqu'à ce que l'immunité soit acquise. Il n'existe actuellement aucun traitement contre la toxoplasmosé chronique puisqu'aucun médicament n'est capable d'éliminer les kystes tissulaires. Les principes actifs des principaux médicaments utilisés en traitement curatif sont essentiellement de la famille des biguanides (pyriméthamine, triméthoprimé...), des sulfamides (sulfadiazine, sulfaméthoxazole...), et des macrolides (AfSAA).^[5] Les traitements antitoxoplasmoses les plus couramment utilisés sont rassemblés dans le tableau ci-dessous.

	traitements	commentaires
Infections asymptomatiques	Aucun	
Femme enceinte contaminée-fœtus sain	spiramycine	L'objectif de cette thérapie est d'éviter l'infection placentaire
Femme enceinte contaminée-fœtus atteint	PYR + SULF + Ac.FOL	Traitement contre-indiqué le 1 ^{er} trimestre de la grossesse (tératogène)
Toxoplasmosé congénitale sans et avec symptômes	PYR + SULF + Ac.FOL	
Patients immunodéprimés (transplantation)	triméthoprimé + sulfaméthoxazole	Traitement prophylactique
Patients immunodéprimés (sidéen)	PYR + SULF + Ac.FOL (clindamycine si intolérance aux sulfonamides) ou PYR + atovaquone, clarithromycine, azithromycine ou dapsone	Après traitement de la phase aiguë, mise en place d'une chimioprophylaxie (même combinaison thérapeutique, mais doses moins élevées)
PYR = pyriméthamine ; SULF = sulfadiazine ; Ac.FOL = acide folinique		

Tableau I.2 : thèse M. Peuchmaur 2007, divers cas de toxoplasmosé et indications de traitements courants

Tout comme *P. falciparum*, *T. gondii* développe aussi des résistances aux médicaments. Cependant, les résistances cliniques aux sulfamides ou aux biguanides semblent peu fréquentes, et rarement documentées par une étude de la susceptibilité de la souche *in vitro*. Par contre, des échecs thérapeutiques sont fréquemment observés avec l'atovaquone utilisée en monothérapie, sans qu'il soit clairement établi s'ils sont dus à des résistances vraies ou à une mauvaise biodisponibilité du médicament.

Afin de mieux comprendre ces problèmes de résistances développées par les parasites aux médicaments, il est important de comprendre le mode d'action de ces derniers et d'identifier leurs cibles biologiques.

VI) Modes d'actions des principaux composés antipaludiques et antitoxoplasmoses.

Les apicomplexes (*P. falciparum* et *T. gondii*) disposent pour leur développement des métabolismes et des moyens de défenses spécifiques qui constituent des cibles comme la membrane plasmique, la vacuole nutritive du parasite, le cytoplasme comportant le cytosol et les deux organites essentiels, les mitochondries et l'apicoplaste (Fig I.7). La compréhension des différents modes d'action cellulaires des agents antipaludiques et antitoxoplasmoses est essentielle pour optimiser leur emploi et comprendre les mécanismes qui sont impliqués dans les phénomènes de résistances. ^[15,16,17]

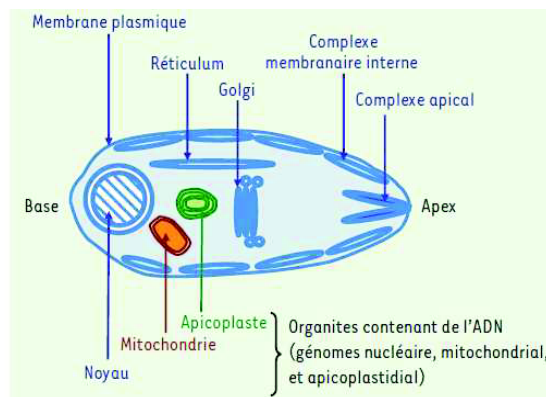
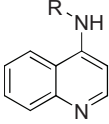
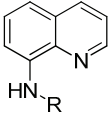
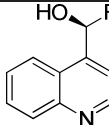
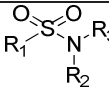
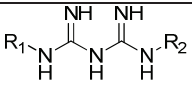
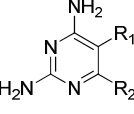
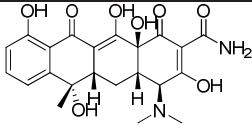
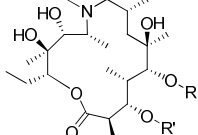


Fig I.7 : schéma de la compartimentation membranaire dans une cellule de *P. falciparum* ^[18]

Selon leurs modes d'actions, les principaux médicaments antipaludiques et antitoxoplasmoses actuels peuvent être classés en deux catégories : **les schizonticides sélectifs** et **les inhibiteurs des acides nucléiques**. Les schizonticides sélectifs comprennent les dérivés quinoléiques et les dérivés de l'artémisinine, ils peuvent interférer avec l'utilisation de l'hémoglobine dans la vacuole nutritive. Les

inhibiteurs des acides nucléiques ou antimétabolites bloquent la division du noyau de l'hématozoaire. Ce groupe comprend les antifolates, les naphtoquinones et les antibiotiques. Les activités biologiques des principaux composés antipaludiques et/ou antitoxoplasmoses sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

activités biologiques	fonctions chimiques	cibles biologiques / étape du cycle
Les quinoléiques : inhibiteurs de la polymérisation de l'hémozoïne	4-aminoquinolines 	Vacuole nutritive / schizontes
	8-aminoquinolines 	
	aminoalcools 	
Les antifolates : Inhibiteurs de la DHPS et de la DHFR	sulfonamides 	Le cytosol
	biguanides 	
	aminopyrimidines 	
Les antibiotiques : (inhibiteur de la synthèse de protéines procaryotiques)	tétracycline 	L'apicoplaste
	macrolides 	

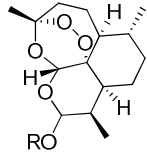
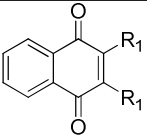
Détoxification de l'hème et Autres ?	 les endopéroxydes	Les cibles potentielles sont : la vacuole nutritive et la membrane plasmodiale.
Les inhibiteurs de la dihydroorotate déshydrogénase	 naphthoquinone	Mitochondrie

Tableau I.3 : structures chimiques des principaux principes actifs, modes d'actions et cibles

➤ Les inhibiteurs de la polymérisation de l'hémozoïne (spécifiquement antipaludiques)

La vacuole est le siège de nombreuses voies métaboliques essentielles à la survie des *Plasmodia* telles que la digestion de l'hémoglobine et la cristallisation de l'hème. En effet, l'hémoglobine est dégradée dans la vacuole en globine, partie protéique qui est hydrolysée en acides aminés, et en hème (union d'un atome ferreux et d'un noyau tétrapyrrolique, la protoporphyrine) qui polymérise en pigment insoluble, pour donner l'hémozoïne. Elle est aussi le siège des moyens de défense contre le stress oxydant tels que la détoxification de l'hème libre et des radicaux libres qui sont néfastes au développement intra-érythrocytaire du parasite. Les dérivés quinoléiques^[19] ont un mécanisme d'action ciblant principalement la détoxification de l'hème libre formé lors de la dégradation de l'hémoglobine, cette détoxification s'effectue par polymérisation pour former l'hémozoïne.

➤ Les antifolates : les inhibiteurs de la dihydrofolate réductase (DHFR) et les inhibiteurs de la dihydroptéroate synthase (DHPS)

Les antifolates agissent dans le cytosol au niveau de la synthèse des folates qui sont des composés essentiels au métabolisme et à l'homéostasie du parasite. Ils interviennent également dans la synthèse des nucléosides et bloquent ainsi la division du noyau du parasite aux stades schizontes (phases érythrocytaire et hépatocytaire). Les antifolates sont des composés possédant des structures biguanides, aminopyrimidines et des sulfamides (Tableau I.3). Ils peuvent être classés en deux grandes familles :

- Les antifoliques (sulfadoxine) : ce sont des inhibiteurs de la dihydroptéroate synthase (DHPS) qui produit l'acide folique. Ces composés présentent aussi des effets indésirables car ils agissent également sur la synthèse de l'acide folique de l'hôte.
- les antifoliques (pyriméthamine, proguanil) : ce sont des inhibiteurs de la dihydrofolate réductase (DHFR) qui produit l'acide folinique.

Lorsque ces molécules sont utilisées en monothérapie, les résistances se développent très rapidement par mutation de l'enzyme-cible. Des combinaisons ont donc été mises au point afin de retarder l'apparition des phénomènes de résistances. Parmi les associations les plus actives, figurent le Fansidar® (pyriméthamine-sulfadoxine), triméthoprimé-sulfaméthoxazole et le Lapdap® (chlorproguanil-dapsone).

➤ Les antibiotiques

Les tétracyclines telles que la doxycycline ou les macrolides telles que l'azithromycine connus pour leur propriétés antibactériennes sont aussi des médicaments validés dans le traitement du paludisme et de la toxoplasmosé. Cette propriété à la fois antibactérienne et antiparasitaires apicomplexes s'explique par le fait que tout comme les bactéries les apicomplexes possèdent leur propre ADN, un génome circulaire de 35 kilobases de type procaryotique localisé dans la mitochondrie et dans l'apicoplaste. Ces antibiotiques peuvent inhiber la synthèse des protéines de type procaryotique par inhibition de certaines fonctions de l'apicoplaste.

➤ Les endopéroxydes ou dérivés de l'artémisinine

Le mode d'action de ces composés n'a pas été clairement établi pour expliquer leurs propriétés à la fois antipaludiques et antitoxoplasmoses. Chez *P. falciparum*, leur mode d'action repose sur la présence du groupement endopéroxyde 1,2,4-trioxane. En effet, ce groupement peut réagir avec le fer de l'hème dans la vacuole pour fournir des radicaux libres hautement réactifs alkylant certaines molécules du parasite, telles que des protéines ou l'ADN, et conduisant ainsi à sa mort. Le véritable mode d'action des endopéroxydes reste controversé,^[20] car certaines observations ne coïncident pas avec l'hypothèse d'activité hème-dépendante : en particulier, les molécules actives ne semblent pas être localisées dans la vacuole nutritive, où l'hème est abondant, mais dans la membrane plasmodiale. La fonction 1,2,4-trioxane semble jouer un rôle important dans l'activité antitoxoplasmosé, car des dérivés désoxyartémisinines sans le fragment 1,2,4-trioxane sont incapables de bloquer la prolifération intracellulaire des tachyzoïtes. Ils inhibent légèrement la prolifération extracellulaire des tachyzoïtes invasives des cellules hôtes.^[21c] L'illumination du mécanisme exact d'action de l'artémisinine et de ces dérivés contre *T. gondii*, un parasite obligatoirement intracellulaire qui ne possède pas de phases érythrocytaires, reste un domaine de recherche important.^[21]

➤ Les inhibiteurs du cytochrome C réductase et de la dihydroorotate déshydrogénase

Les apicomplexes réalisent leur métabolisme énergétique mitochondrial grâce à deux enzymes : le cytochrome C réductase et la dihydroorotate déshydrogénase, une enzyme clé dans la biosynthèse des nucléotides. Les naphthoquinones dont l'atovaquone, l'ubiquinone, et PHQN-6 sont des inhibiteurs puissants des fonctions mitochondriales. Ils bloquent la chaîne de transfert d'électrons au niveau de son enzyme-clé, la dihydroorotate déshydrogénase (DHODase). L'atovaquone a peu d'impact thérapeutique lorsqu'elle est utilisée seule. En combinaison avec un antimétabolite (proguanil), une intéressante synergie d'action grâce à une inhibition séquentielle de la synthèse des pyrimidines est observée. Une originalité de l'association atovaquone-proguanil est son action sur les stades hépatocytaires de *P. falciparum*. L'atovaquone fait partie des rares molécules actives sur les tachyzoïtes et les kystes de *T. gondii*.^[22] Malgré cette caractéristique remarquable qui pourrait permettre d'envisager une complète éradication du parasite, l'utilisation de l'atovaquone reste très limitée par sa mauvaise biodisponibilité. Une équipe brésilienne^[23] a décrit une hydroxynaphthoquinone, la PHNQ6 [2-(3-allylphényl)-3-hydroxy-1,4-naphthoquinone], qui permet de diminuer de façon significative le nombre de kystes dans le cerveau des souris après 4 semaines de traitement, sans pour autant éliminer totalement les kystes.

V) Cibles potentielles et nouvelles molécules pour la conception de nouveaux médicaments

Depuis 1996, aucune nouvelle classe de composés chimiques n'a été présentée pour le traitement clinique du paludisme,^[24] la diversité structurale des nouveaux composés est cependant un facteur important dans l'identification de nouvelles cibles biologiques. De nombreuses cibles potentielles peuvent être envisagées pour la conception de nouveaux composés antipaludiques et antitoxoplasmoses. Par la suite, nous considérerons que toutes les cibles potentiellement antipaludiques sont également des cibles antitoxoplasmoses, même si actuellement l'activité antitoxoplasmosé de tous les composés antipaludiques n'a pas encore été évaluée. Cependant les ressemblances structurales et fonctionnelles entre les parasites *T. gondii* et *P. falciparum* peuvent corroborer cette hypothèse.

↳ 1) Potentielles cibles biologiques conventionnelles

a) De nouvelles enzymes cytoplasmiques comme cible

De nouvelles cibles protéiques peuvent être envisagées pour la conception de nouveaux médicaments. Beaucoup de parasitologistes dont Guiguemde *et al.* se sont intéressés à l'identification par la génétique de nouvelles cibles.^[25] Le séquençage du génome du *P. falciparum*, qui a révélé que 60% de ses protéines sont orthologues aux humains,^[26] a accéléré cette approche même si pour la conception de médicaments d'autres facteurs tels que la biodisponibilité et la toxicologie doivent aussi être pris en compte. Les études ont permis de déterminer un certain nombre de protéines essentielles pour le parasite telles que des kinases, des protéases dont la cystéine protéase. D'autres enzymes intervenant dans l'hydrolyse de la globine (en acide aspartique et métalloprotéases) et des enzymes intervenant dans les mécanismes de défense contre le stress oxydant (le système thiorédoxine réductase, etc...) sont également des cibles potentielles non exploitées. La lactase déshydrogénase (LDH), jouant un rôle important dans la glycolyse chez *P. falciparum*, constitue une cible potentielle pour la recherche et la conception d'inhibiteurs sélectifs. La farnésyl transférase, l'enzyme catalysant le transfert de résidus farnésyle d'un farnésyl-pyrophosphate sur un résidu cystéine proche du C-terminal de différentes protéines, est très étudiée pour le développement d'inhibiteurs sélectifs. Les parasites *Plasmodia* sont incapables de synthétiser les purines et sont donc contraints d'utiliser celles de leur hôte, à l'inverse des pyrimidines qu'ils synthétisent eux-même. Les inhibiteurs de la synthèse des pyrimidines et de la récupération des purines sont donc des voies métaboliques permettant d'envisager le développement de molécules sélectives. Même si cette stratégie ciblant les enzymes est souvent controversée (celles-ci subissent facilement des phénomènes de mutation), des cibles enzymatiques font toujours l'objet de diverses recherches pour la conception de nouveaux composés antiparasitaires.

b) La membrane plasmique comme cible

L'équipe d'Henri Vial^[27] développe une nouvelle approche ciblant la membrane plasmique pour la conception de nouveaux composés antipaludiques. En effet, la membrane plasmique constituée de phospholipides, de canaux calciques et parasitophores, est le siège du trafic nutritionnel. On y trouve le transporteur de choline qui fournit au parasite un précurseur indispensable pour la synthèse de la phosphatidylcholine, principal phospholipide plasmodial. Les phospholipides sont les constituants majeurs des membranes du *Plasmodium*. La synthèse de la phosphatidylcholine impliquant l'apport de choline au parasite, l'équipe de Vial^[27] développe une stratégie thérapeutique qui consiste à bloquer le transporteur de la choline par des sels d'ammonium bisquaternaires (Fig I.8). Différentes études de relations structure-activité ont permis aux auteurs d'optimiser la structure des sels d'ammonium

bisquaternaires. Une molécule nommée G25 [dibromure de 1,16-hexadécaméthylènebis(*N*-méthylpyrrolidinium)] (Fig I.8), a permis l'inhibition *in vitro* de la croissance de *P. falciparum* à des concentrations 1000 fois inférieures à la toxicité mesurée sur les cellules de mammifères. Ce composé s'est également révélé actif *in vivo*^[28] sur les souris et sur les primates. Ces composés sont aujourd'hui en phase clinique de développement. Ils constituent une nouvelle classe de composés antipaludiques agissant sur de nouvelles cibles biologiques.

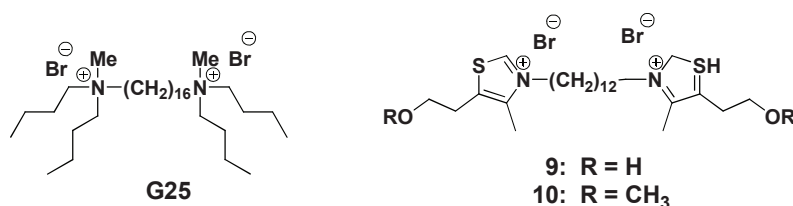


Fig I. 8 : nouvelles molécules ciblant la membrane plasmique

c) L'apicoplaste comme cible

L'apicoplaste est le siège de quatre voies métaboliques^[18] uniques aux apicomplexes qui sont la voie de synthèse des acides gras par FASII,^[29] la voie de synthèse des isoprénoides de type 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate (voie DOXP),^[30] la voie de synthèse des hèmes^[31] et, enfin, la voie de synthèse de centres fer/soufre (FeS).^[32] Les premières molécules développées pour viser l'apicoplaste agissent soit sur la maintenance et la biologie de l'ADN contenu dans cet organelle (c'est le cas notamment des antibiotiques) soit sur les voies métaboliques qui y sont localisées telles que les voies de synthèse des acides gras, des isoprénoides... qui ont très vite attiré l'attention en tant que cibles prometteuses pour de nouvelles chimiothérapies. Plusieurs composés têtes de séries ont ainsi été identifiés, parmi lesquels se trouvent la thiolactomycine et le triclosan (Tableau I.4).

Molécules candidates	Cibles	Effets
Maintenance et réplication de l'ADN, transcription et traduction		
Ciprofloxacine	réplication de l'ADN	immédiat
Rifampicine	transcription	retardé (?)
Doxycycline	traduction	retardé
Voies métaboliques compartimentées		
Triclosan	Synthèse des lipides (acide gras synthase de type II) et cible(s) non identifiée(s)	immédiat

Thiolactomycine	Synthèse des lipides (acide gras synthase de type II) et cible(s) non identifiée(s)	immédiat
Fosmidomycine	Biosynthèse des isoprénoïdes	immédiat

Tableau I.4 : molécules ciblant l'apicoplaste^[18]

d) Les histones comme cible

L'apidicine et la HC-toxine possèdent de bonnes propriétés antipaludiques et antitoxoplasmoses. Ce sont des inhibiteurs des histones désacétylases qui sont des enzymes jouant un rôle important dans le contrôle de la structure de l'ADN. Ces composés sont très prometteurs pour la conception de nouveaux composés antiparasitaires apicomplexes.^[33] Toutefois, l'enjeu réside encore dans l'amélioration de la sélectivité de l'inhibition entre le parasite et l'hôte.

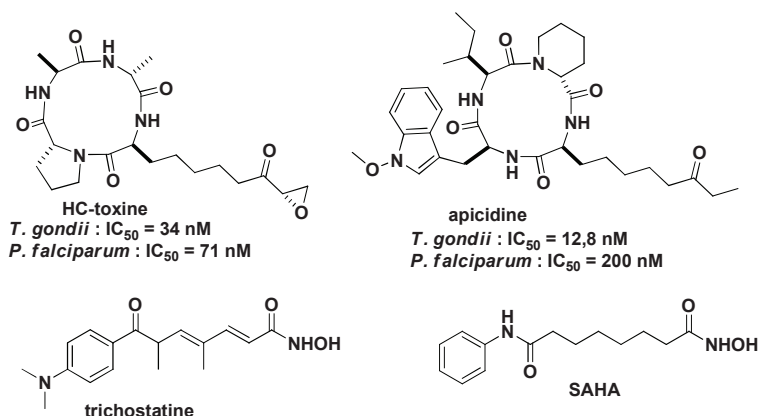


Fig.9 : inhibiteurs d'histones deacétylases à activité antiparasitaires

↳ 2) Nouvelles structures chimiques

Pour répondre aux besoins urgents de trouver de nouvelles entités chimiques, plusieurs approches^[34] ont été développées afin de s'interroger sur la structure de nouveaux composés antipaludiques potentiellement antitoxoplasmoses. Ces nouvelles approches sont basées sur des méthodes et des essais pour analyser et caractériser les composés antipaludiques prioritaires et publiquement disponibles afin de rassembler plus d'informations nécessaires pour le développement des médicaments de futures générations. Elles visent également à encourager des chercheurs à développer et à appliquer des approches biologiques, chimiques, informatiques et à base de systèmes innovants

[24,25] pour faciliter la sélection de meilleurs composés antipaludiques à développer. Ces différentes études notamment celles menées par l'équipe de Gamo^[24,35] ont conduit à la découverte de milliers de composés avec d'excellentes activités inhibitrices. Les structures et les descriptions de ces composés ont été publiées récemment et sont également disponibles dans des bases de données^[36] accessibles. L'entreprise « medicines for malaria ventures (MMV) » a récemment choisi 400 composés des bibliothèques chimiques de l'Hôpital de Recherche de St. Jude Children, de Novartis et de GlaxoSmithKline pour former "the malaria box" incluant 200 composés semblables aux médicaments actuels comme des points de départ pour la découverte de médicament antipaludiques et pour la conception d'outils pour des études biologiques.

La découverte de nouvelles entités chimiques exploite également les produits d'origine naturelle et synthétique possédant de bonnes propriétés antipaludiques avec des cibles biologiques méconnues en général.

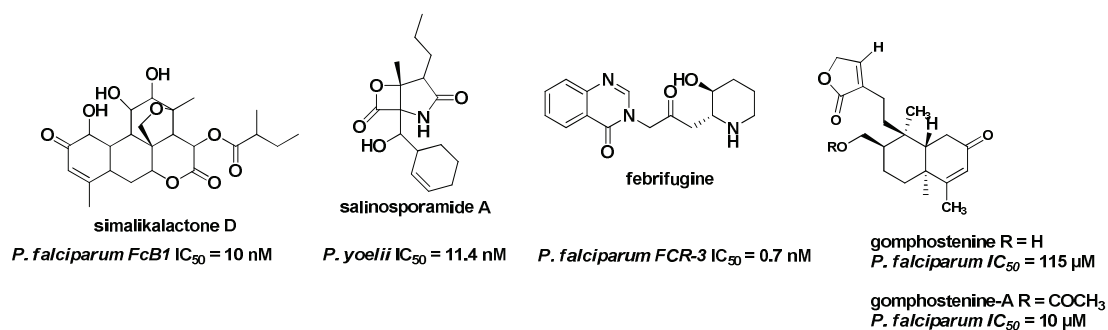


Fig I.8 nouvelles molécules candidats médicaments

La Simalikalactone D^[37] extrait d'une plante *Quassia amara* L. (*Simaroubaceae*) semble avoir une cible mitochondriale et présente des effets synergiques avec l'atovaquone. D'origine marine, la salinosporamide A, isolé de *Actinomycètes*, est un composé anticancéreux en phase clinique de développement qui possède également de bonnes propriétés antipaludiques.^[38] La fébrifugine^[39] est une quinazolinone isolée d'une plante chinoise *Febrifuga dichroa*. Ce produit naturel et divers analogues se sont révélés être d'excellents composés antipaludiques. Les gomphostenines^[40] sont également de nouveaux antipaludiques caractérisés en 2009, ils ont été extraits des racines de *Gomphostemma niveum* une plante utilisée dans la médecine traditionnelle indienne.

Conclusion

Le paludisme et la toxoplasmosé sont de sérieux problèmes de santé publique. De nos jours, il n'existe toujours pas de vaccins contre ces deux parasitoses, la seule méthode de traitement efficace reste le traitement médicamenteux. Les parasites *T. gondii* (rarement) et *P. falciparum* (très souvent)

développent des résistances aux médicaments mis sur le marché. Depuis 1996, aucune nouvelle molécule agissant sur une nouvelle cible n'a été introduite pour le traitement du paludisme et de la toxoplasmose. La recherche de nouveaux composés possédant à la fois des structures originales et agissant sur de nouvelles cibles représente une des approches pour pallier les problèmes de résistances observés chez les parasites. Dans ces recherches de nouveaux composés, les produits d'origine naturelle sont très sollicités notamment ceux qui sont utilisés dans les différentes médecines traditionnelles.

Chapitre II :

*Produits naturels et conception de
nouveaux médicaments*

*Antipaludiques et
Antitoxoplasmoses*

Introduction

Les produits d'origine naturelle sont une source importante de découverte de nouvelles entités chimiques dont sont issus bons nombres de candidats médicaments. Ainsi, que se soit dans le domaine du cancer, des maladies neurodégénératives ou des maladies infectieuses, ils sont sollicités pour la découverte de nouveaux médicaments depuis de longues dates. Avant les années 1990, le principe actif d'environ 80% de médicaments vendus était isolé de produits d'origine naturelle ou des analogues inspirés de produits naturels. Parmi eux, on peut citer des antibiotiques (la pénicilline, la tétracycline, l'érythromycine), des antiparasitaires (la quinine, l'artémisinine), des immunosuppresseurs (cyclosporine, rapamycines) et des anticancéreux (taxol, doxorubicine) (Fig II.1). Le principe actif de ces célèbres médicaments a été isolé souvent à partir des plantes, mais aussi à partir des champignons (pénicilline) ou des bactéries.

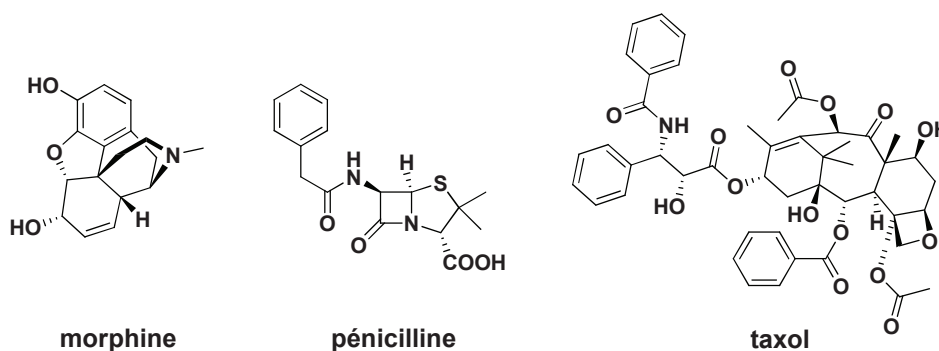


Fig II.1 : morphine (extrait de *Papaver somniferum*), pénicilline G (extrait du champignon *Penicilliumfungi*), taxol (ou paclitaxel, extrait du *Taxus brevifolia*)

Les travaux de cette thèse touchent à des méthodes d'optimisation des structures de produits naturels dans le but de comprendre les relations structure-activité, et d'obtenir de meilleures activités biologiques antiparasitaires. Cette stratégie cible deux familles de molécules d'origine naturelle qui sont d'une part les **aculéatines** extraites d'une plante *Amomum aculeatum* pour leurs propriétés antipaludiques, et d'autre part les **tétrapeptides cycliques** analogues de **FR235222** extrait d'un champignon *Acremonium sp.* pour leurs propriétés antitoxoplasmoses très efficaces (Fig II.2). En utilisant des stratégies de synthèses flexibles et modulables en peu d'étapes, de nouveaux analogues de ces deux familles de produits naturels ont été synthétisés dans le but d'une part d'augmenter l'activité antipaludique des aculéatines et d'autre part de déterminer leur cible biologique qui pourrait être une nouvelle cible dans le traitement du paludisme. Avec les nouveaux analogues des tétrapeptides cycliques, l'objectif sera de diminuer la toxicité en augmentant l'index de sélectivité (SI) tout en conservant l'activité antiparasitaire efficace de l'ordre du nanomolaire.

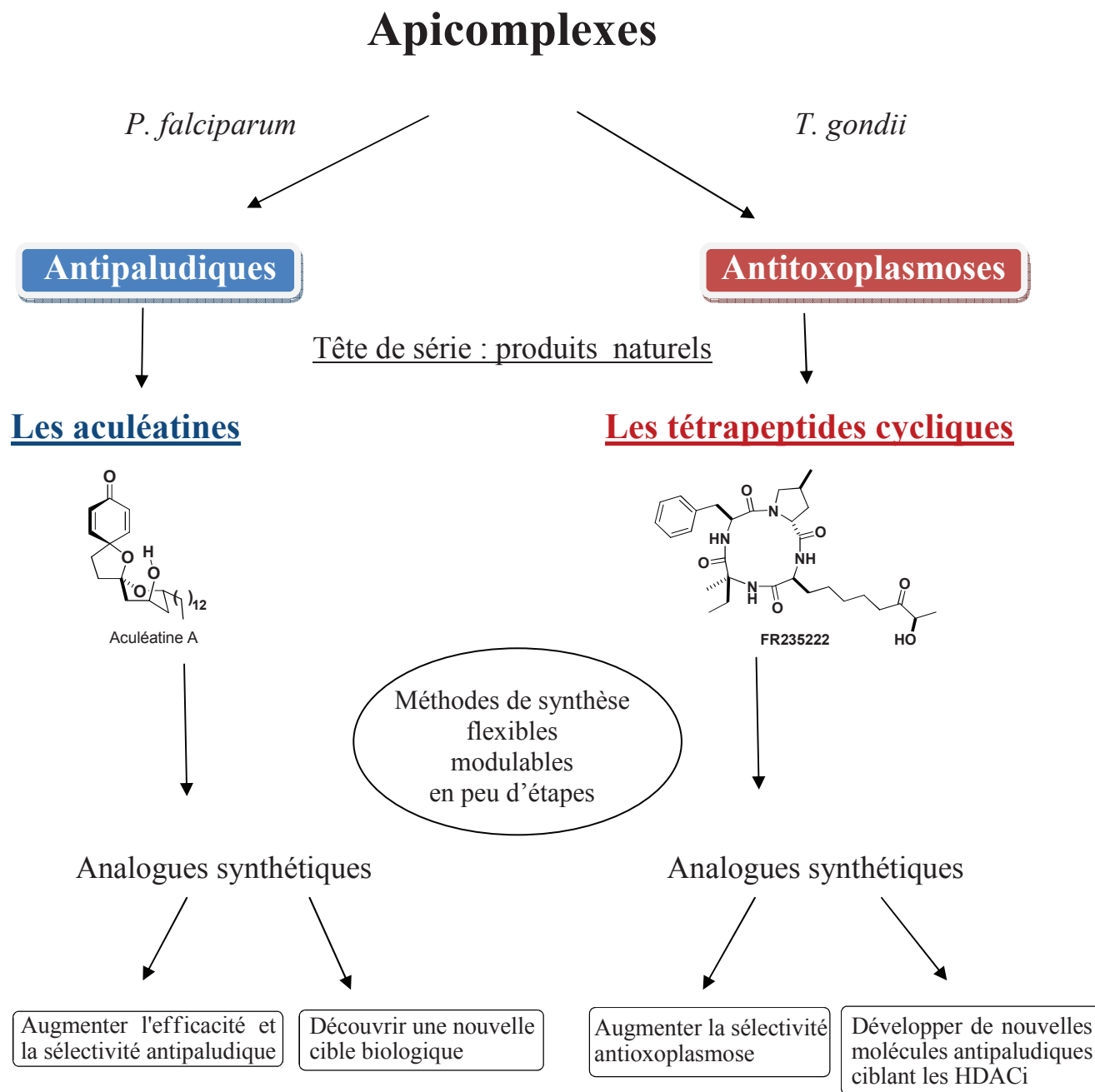


Fig II.2 : stratégie bioinspirée pour la conception de nouveaux composés antiparasitaires analogues de produits naturels

I) Les aculéatines

1) Les composés naturels de la famille des aculéatines

Les aculéatines (Fig II.3) sont des molécules extraites des racines d'*Amomum aculeatum* une plante rencontrée en Nouvelle Guinée Papouasie, en Malaisie et en Indonésie, où elle est utilisée dans les différentes médecines traditionnelles pour le traitement de la fièvre et du paludisme. En 2000 les aculéatines A, B et C ont été isolées et caractérisées par l'équipe de Heilmann.^[41] Une année plus tard l'aculéatine D a été publiée par la même équipe.^[42]

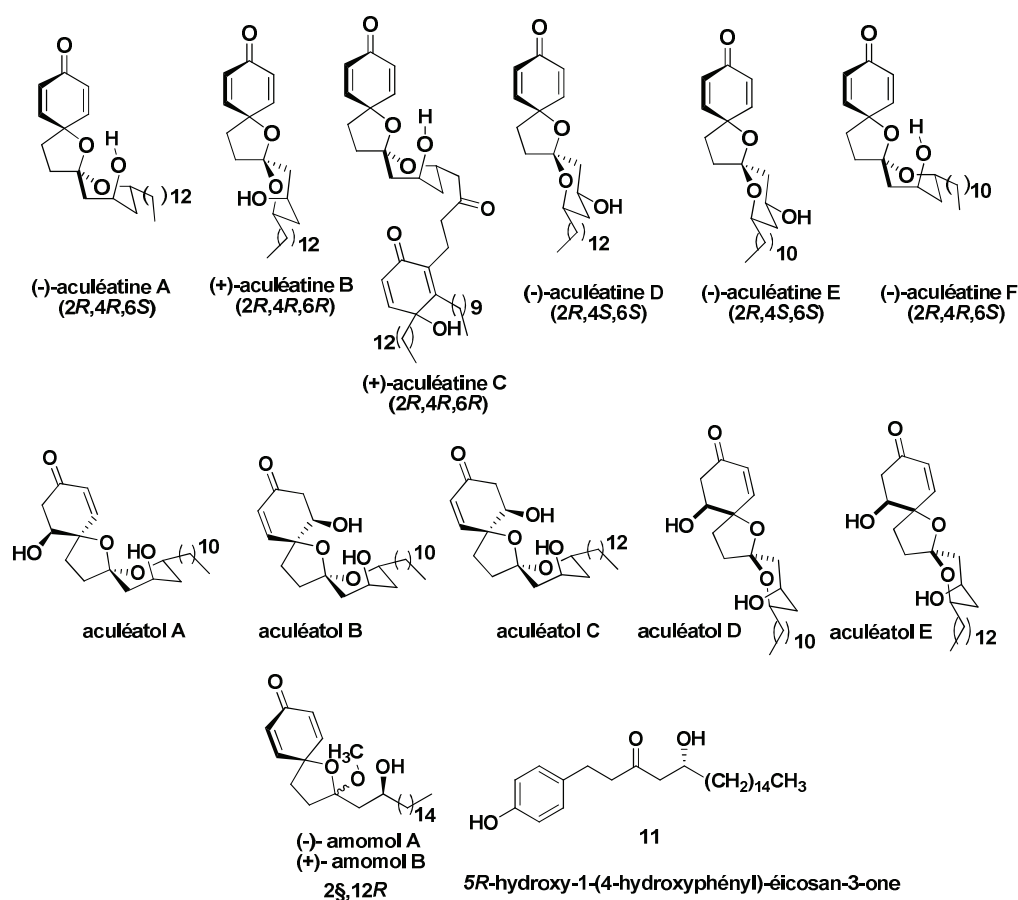


Fig II.3 : les aculéatines et analogues naturels

En 2007, d'autres composés de la famille des aculéatines, les aculéatols A-D ont été caractérisés à partir des feuilles et des rachis d'*Amomum aculeatum* (fractions hexane-chloroforme) par l'équipe de Kinghorn.^[43] Par la même occasion, les auteurs ont identifié un cinquième composé phénolique acyclique **11** qui pourrait être le précurseur naturel des amomols. En 2008, les aculéatines E, F ainsi que l'aculéatol E ont été isolés à partir des feuilles d'*Amomum aculeatum* (fractions hexane-

chloroforme) par l'équipe de Kinghorn.^[44] En parallèle, ils ont isolé deux autres produits naturels les amomols A et B. Les amomols sont de nouveaux analogues avec un cycle en moins par rapport aux aculéatines et aculéatols.

↳ 2) Structures et activités des aculéatines et analogues naturels

Connues pour leurs propriétés antipaludiques intéressantes et présentant une activité de l'ordre de 0,20 μM sur les souches 3D7 et K1 du *P. falciparum*, les aculéatines A et B^[41] se sont ensuite révélées être aussi des composés actifs sur plusieurs lignées de cellules cancéreuses (Tableau II.1). La structure tridimensionnelle polyspirannique des aculéatines semble avoir peu d'influence sur les activités biologiques observées, même si pour les mêmes activités biologiques, l'aculéatine A reste la meilleure molécule antipaludique et que l'aculéatine D présente une meilleure activité bactérienne.^[42] Les aculéatols se sont aussi révélés cytotoxiques sur plusieurs lignées de cellules cancéreuses tout comme les aculéatines E et F, et les amomols A et B. Les derniers nouveaux composés isolés par Kinghorn n'ont pas été évalués pour leurs activités antiprotozoaires.^[43,44]

	Activités antiprotozoaires (IC ₅₀ en μM)				Cytotoxicité (lignées cellulaires) (IC ₅₀ en μM)				Activités antibactériennes (CMI en μM)		
	<i>P. falciparum</i> K1	<i>P. falciparum</i> NF54	<i>T. cruzi</i>	<i>T. b. rhodesiense</i>	KB	Lu1	LNCaP	MCF-7	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>St. Epidermis</i>
Aculéatine A	0,18	0,20	0,30	0,90	1,7	1,0	0,5	0,2			
Aculéatine B	0,43	0,62	1,00	1,10	2,0	3,1	1,2	1,9			
Aculéatine C	0,37	0,51	2,20	3,00	1,6						
Aculéatine D	1,00	1,12	1,17	0,48	0,9				38	38	19
Aculéatol A						3,7	1,5	2,7			
Aculéatol B						1,5	1,2	2,7			
Aculéatol C						2,8	1,1	1,6			
Aculéatol D						5,4	2,2	1,7			
Aculéatine E						1,8	1,8	0,5			
Aculéatine F						1,0	0,7	0,5			
Aculéatol E						1,8	4,4	3,9			
Amomol A						0,9	0,7	0,9			
Amomol B						0,5	0,9	0,7			
Chloroquine	0,12	0,01									
Melarsoprol				0,01							
Beznidazol			2,30								
Podophyllotoxin					0,01						
Chloramphenicol									4	2	4

Tableau II.1 : activités biologiques des aculéatines et analogues naturels

↳ 3) Relations structures activités des aculéatines

Des études de relations structure-activité antérieures aux travaux de cette thèse ont permis d'identifier la fonction cyclohexa-2,5-diénone et la chaîne grasse comme deux fonctions indispensables à l'activité biologique antipaludique des aculéatines. La réduction de la fonction cyclohexa-2,5-diénone du composé **12** (Fig II.4) conduit à la perte de l'activité antipaludique^[45] ($IC_{50} > 5 \mu M$). Les analogues **13** et **14** ne présentant pas de chaîne grasse se sont révélés toxiques lors des tests *in vitro*. La meilleure activité antipaludique *in vitro* de l'ordre du nanomolaire a été obtenue avec les composés synthétiques **15** et **16** qui présentent deux fonctions cyclohexa-2,5-diénone. Cependant, ces derniers se sont révélés cytotoxiques *in vivo*. Cette toxicité pourrait être due à l'hydrolyse de la fonction ester dans le milieu vivant par les estérases (Thèse Peuchmaur, 2007) qui génèrent respectivement les analogues **13** et **14** toxiques.

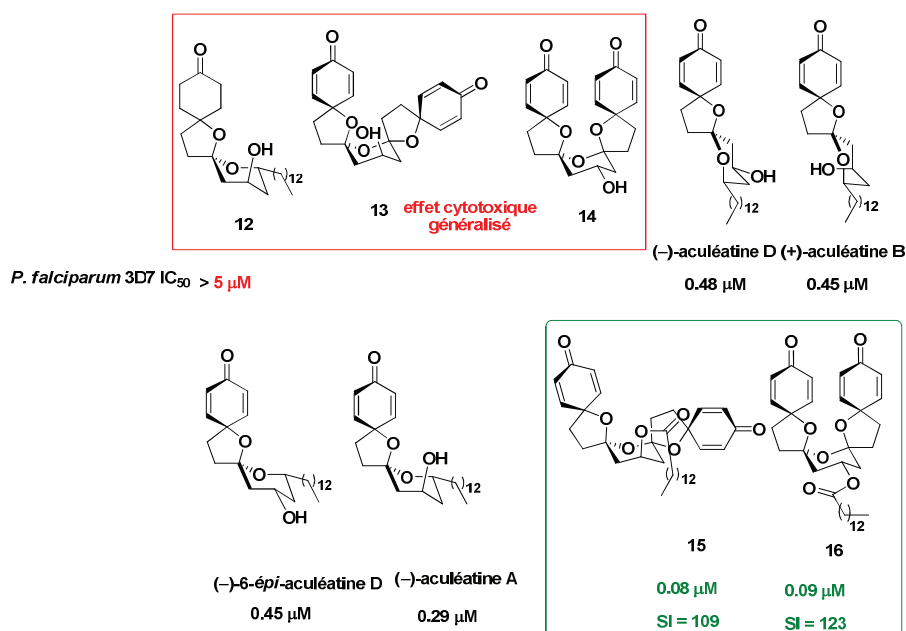


Fig II.4 : relations structure-activité des premiers composés synthétiques

Les nouveaux dérivés d'aculéatines ont un effet antiprolifératif rapide sur la croissance du parasite à différents stades comme on peut l'observer sur la courbe (Fig II.5) avec le composé **15**. Cependant le mode d'action ainsi que la cible biologique demeurent encore inconnus.

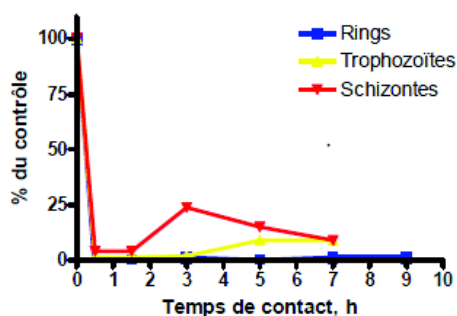


Fig II.5 : mode d'action du composé **15** sur la croissance du parasite

II) Synthèses antérieures des aculéatines naturelles et de leurs épimères synthétiques

Plusieurs synthèses racémiques et énantiopures des aculéatines ont été réalisées. Toutes ces synthèses passent par un mécanisme biomimétique hypothétique (Schéma II.1) de réactions en cascade d'oxydation phénolique à partir d'un dérivé phénolique de type **17**, présentant une fonction cétone en position γ , et *via* la formation d'un intermédiaire phénoxénium **18**.

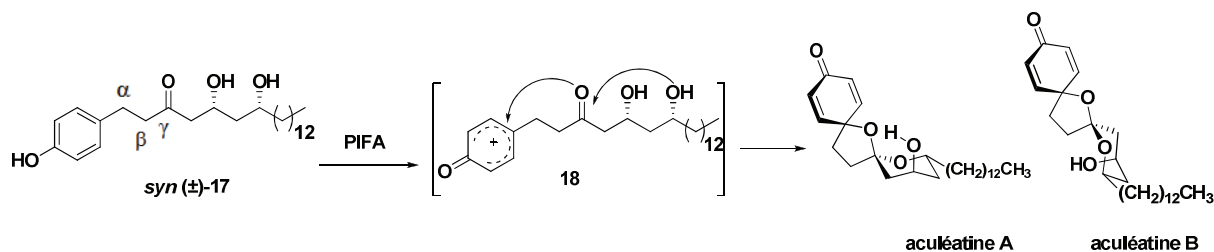
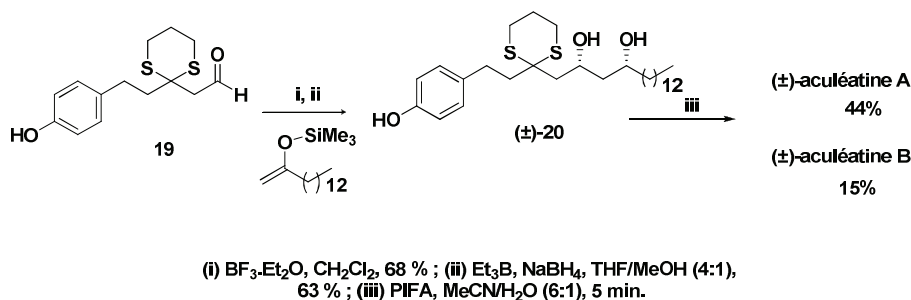


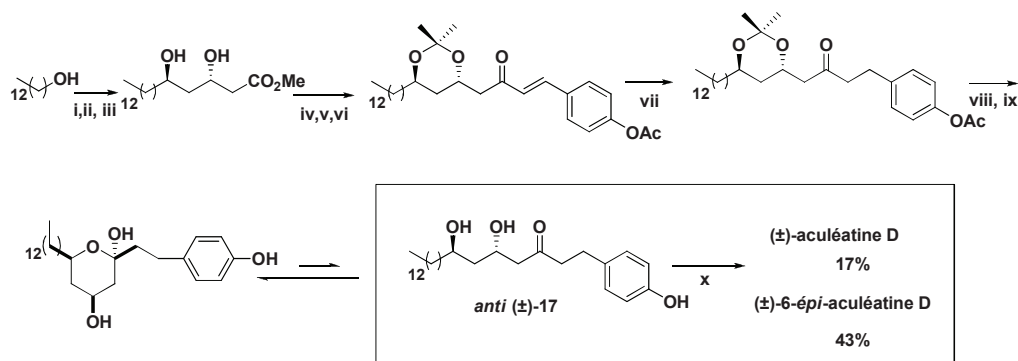
Schéma II.1 : hypothèse biomimétique de synthèse des aculéatines

Diverses stratégies ont été développées afin d'accéder aux dérivés phénoliques de type **17**, racémiques ou énantiopures.

En 2002, la première synthèse totale des aculéatines A et B a été rapporté par Wong^[46] de façon racémique. Cette synthèse a été réalisée suivant une séquence tandem de réaction oxydation phénolique/déprotection du dithiane, du composé (±)-**20** en utilisant le PIFA comme réactif.

Schéma II. 2 : première synthèse racémique des aculéatines A et B^[46]

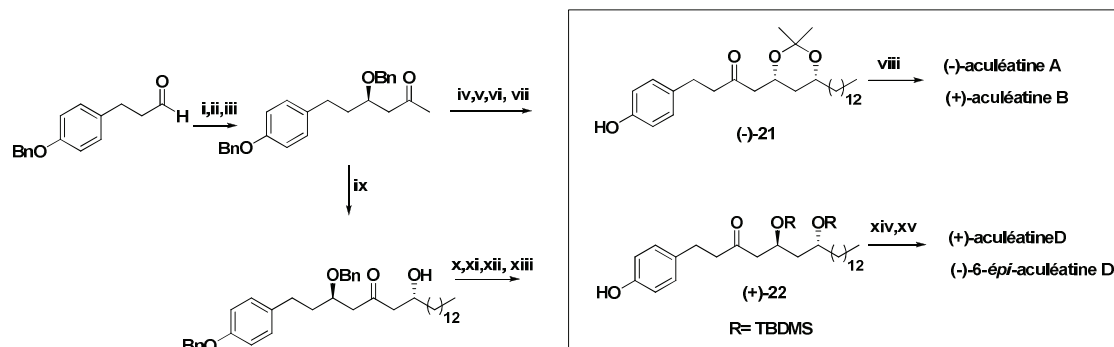
En 2005, Baldwin *et al.*^[47] ont rapporté la synthèse racémique des aculéatines D, et 6-*épi*-D par oxydation phénolique du composé *anti* (±)-**17** (schéma II.3).



(i) PCC , CH_2Cl_2 , 85 % ; (ii) acétoacétate de méthyle, NaH , THF puis $n\text{-BuLi}$ 84 % ; (iii) $\text{Me}_4\text{NBH}(\text{OAc})_3$, MeCN/AcOH (1:1), 89 % ; (iv) 2,2-diméthoxypropane, CSA , 98 % ; (v) méthylphosphonate de diméthyle, $n\text{-BuLi}$, THF , 65 % ; (vi) NaH , THF puis 4-acétoxybenzaldéhyde 82 % ; (vii) H_2 (1 atm), Pd/C cat., AcOEt , 76 % ; (viii) K_2CO_3 , MeOH , 89 % ; (ix) HCl aq. 0,5 M, THF , 83 % ; (x) PIFA, acétone/ H_2O (9:1), 20 min.

Schéma II.3 : première synthèse racémique de l'aculéatine D

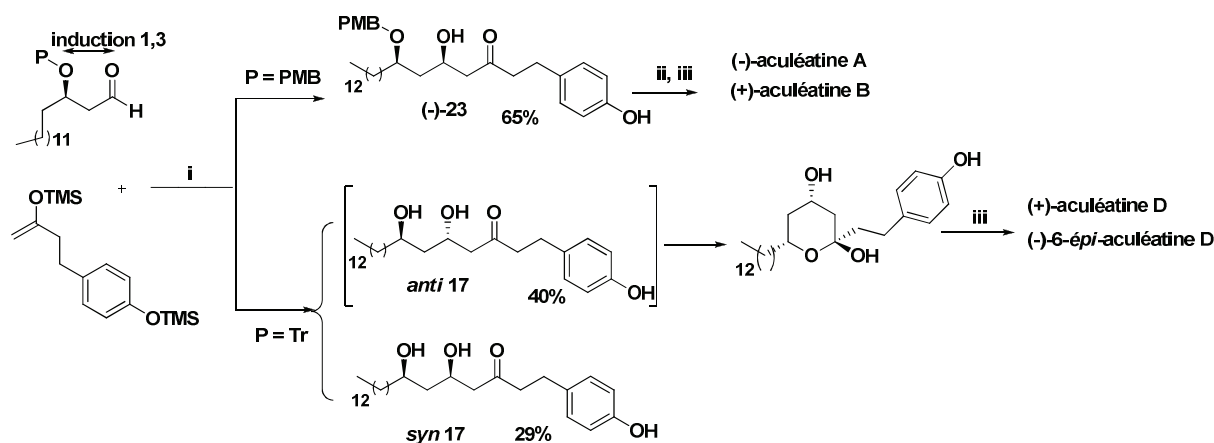
C'est en 2006 que Bercedo *et al.*^[48] ont décrit les premières synthèses énantiosélectives des aculéatines A, B, D et d'un analogue non naturel, le 6-*épi*-aculéatine D (schéma II.4). La première synthèse énantiopure des aculéatines A et B a été réalisée grâce à la réaction d'allylation asymétrique utilisant un allylborane chiral préparé à partir du (–)-DIP-Cl pour obtenir le composé (–)-**21**. La réaction d'aldolisation avec induction 1,5 de chiralité conduit au composé (+)-**22**, qui a permis d'obtenir les aculéatines D et 6-*épi*-D par la suite.



(i) allylBIPC₂ obtenu à partir de (-)-DIP-Cl et bromure d'allylmagnésium, Et₂O ; (ii) NaH, THF puis BnBr, 85 % sur 2 étapes ; (iii) PdCl₂, CuCl₂, DMF aq., O₂, 75 % ; (iv) Bu₂BOTf, Et₃N/Pr₂, CH₂Cl₂ puis *n*-tétradécanal puis LiBH₄, 65 % ; (v) 2,2-diméthoxypropane, CSA cat., acétone, 72 % ; (vi) H₂ (1 atm.), Pd/C 10 %, AcOEt, 70 % ; (vii) (COCl)₂, DMSO, CH₂Cl₂ puis Et₃N, 87 % ; (viii) PIFA, acétone/H₂O, (9:1), 24 h, 65 % ; (ix) Bu₂BOTf, Et₃N/Pr₂, CH₂Cl₂ puis *n*-tétradécanal, 70 % ; (x) Me₄NBH(OAc)₃, MeCN/AcOH, 86 % ; (xi) TBDMSOTf, 2,6-lutidine, CH₂Cl₂, 91 % ; (xii) H₂ (1 atm.), Pd/C 10 %, AcOEt, 74 % ; (xiii) (COCl)₂, DMSO, CH₂Cl₂ puis Et₃N, 81 % ; (xiv) TASf (tris(diméthylamino)sulfonium difluoro-triméthylsilicate), DMF ; (xv) PIFA, acétone/H₂O (9:1), 30 min, 77 % sur 2 étapes

Schéma II.4 : premières synthèses énantiosélectives des aculéatines

En 2007, Peuchmaur et Wong^[49] ont décrit une autre stratégie de synthèse stéréocontrôlée des aculéatines A, B, D et 6-épi-D grâce à une approche d'induction chirale 1,3 au cours de la réaction d'aldolisation de Mukaiyama (Schéma II.5). Cette synthèse homochirale des aculéatines utilise une stratégie diastéréodivergente en jouant sur la nature du groupement protecteur P. Le diastéréoisomère *syn* diol (-)-23 est obtenu majoritairement avec un groupement protecteur PMB, tandis que l'autre diastéréoisomère *anti* 17 est isolé de façon majoritaire lorsque P est un groupement trityle. Les deux diastéréoisomères *syn* et *anti* ont permis d'obtenir respectivement les aculéatines A, B et les aculéatines D et 6-épi-D.



i) BF₃·Et₂O, THF, -78°C ; puis Bu₄NF, THF ; ii) H₂, Pd/C, AcOEt ; iii) PIFA, acétone/H₂O (9:1), 30 min

Schéma II.5 : synthèse énantiosélective des aculéatines

La même année, Chandrasekhar *et al.*^[50] ont reporté une autre synthèse énantiosélective des aculéatines A, B, D. D'autres synthèses stéréocontrôlées des aculéatines ont suivi, en 2009 par l'équipe de Rychnovsky.^[51] En 2010, l'équipe de Yadav a rapporté deux synthèses des aculéatines, l'une à

partir du L-acide maléique,^[52] et l'autre en utilisant une stratégie *via* une cyclisation de Prins.^[53] Tout récemment, plusieurs équipes indiennes ont décrit d'autres (versions de) synthèses, parmi eux l'équipe de Kumar^[54] en 2010, ou celle de Sudhakar.^[55]

Enfin, toujours en 2010, Pandey *et al.* ont publié la dernière synthèse modulable des aculéatines A, B, E, F ainsi que celle des analogues non naturels 6-*épi*-aculéatines E et F.^[56] (Schéma II.6). Ils utilisent une stratégie de synthèse convergente de trois fragments afin de moduler facilement, à la fois la longueur de la chaîne grasse et aussi de la stéréochimie des diols pouvant aboutir aux aculéatines A, B, D, 6-*épi*-D, E, 6-*épi*-E, F, 6-*épi*-F.

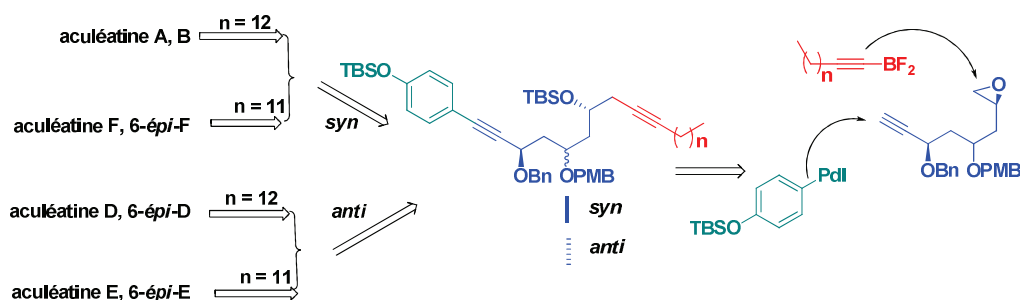


Schéma II.6 : synthèse convergente des aculéatines

Afin d'établir une comparaison entre les différentes méthodes de synthèse décrites dans la littérature, le nombre d'étapes ainsi que les rendements globaux de chaque diastéréoisomère sont présentés dans le tableau II.2

	nombre d'étapes	rendements globaux (%) des aculéatines							
		A	B	D	6- <i>épi</i> D	E	6- <i>épi</i> E	F	6- <i>Epi</i> F
Synthèse racémique – Wong 2002	9	8,7	3,0	/	/	/	/	/	/
Synthèse racémique – Baldwin <i>et al.</i> 2005	9	/	/	2,1	3,0	/	/	/	/
Synthèse énantiosélective – Falomir <i>et al.</i> 2006	10	6,5	1,2	/	/	/	/	/	/
Synthèse énantiosélective – Alvarez-Bercedo <i>et al.</i> 2006	12	/	/	2,8	7,6	/	/	/	/
Synthèse énantiosélective - Peuchmaur et Wong 2007	6/7	10,8	7,7	10,7	9,7	/	/	/	/
Synthèse énantiosélective – Chandrasekhar <i>et al.</i> 2007	8	10,8	4,3	/	/	/	/	/	/
Synthèse énantiosélective – Rychnovsky <i>et al.</i> 2009	10	/	/	14	16	/	/	/	/
Synthèse énantiosélective – Yadav <i>et al.</i> 2010	9	13		5	/	/	/	/	/

Synthèse énantiosélective – Pandey <i>et al.</i> 2010	12	6,9	2,5	/	/	4,4	4,4	6,3	1,9
---	----	-----	-----	---	---	-----	-----	-----	-----

Tableau II.2 : rendements globaux des différentes synthèses totales des aculéatines

III) Les tétrapeptides cycliques inhibiteurs des histones désacétylases (HDACi)

Les histones désacétylases (HDAC) sont des enzymes qui jouent un rôle important lors des processus de condensation de l'ADN sous forme de chromatine et par conséquent, dans les mécanismes de la régulation de l'expression génétique. Le dysfonctionnement des enzymes HDACs est associé à une variété de pathologies humaines, comme le cancer, l'anémie drépanocytaire, la polyarthrite chronique évolutive et l'hypertrophie cardiaque.^[57] La découverte de molécules agissant comme des inhibiteurs des HDAC, appelées HDACi, ont permis de mieux comprendre les fonctions de ces enzymes. Les produits naturels et analogues inhibiteurs des HDACs sont de plus en plus étudiés en chimie et en biologie. Des progrès ont été réalisés aussi bien dans leur synthèse que dans la compréhension des mécanismes d'action dans les pathologies auxquelles ils sont associés. Les recherches s'orientent vers le développement de nouveaux inhibiteurs sélectifs des isoformes de la famille des enzymes HDACs. En effet, le génome humain code pour 11 différents HDACs^[58] classés en 4 familles en fonctions des homologies structurales. Les classes I (HDACs 1, 2, 3 et 8), IIa (HDACs 4, 5, 7, 9), IIb (HDACs 6, 10), et IV (HDAC 11) sont Zn-dépendants c'est-à-dire que leur site catalytique contient du Zn (Fig II.5). La classe III est NAD-dépendante. La plupart de ces enzymes HDACs est commune aux métazoaires et aux protozoaires, à l'exception du HDAC6 qui serait absent chez les parasites apicomplexes.^[59]

D'autres enzymes, les histones acétyl transférases^[60] (HAT) ont pour rôle d'acétyler les queues histones.

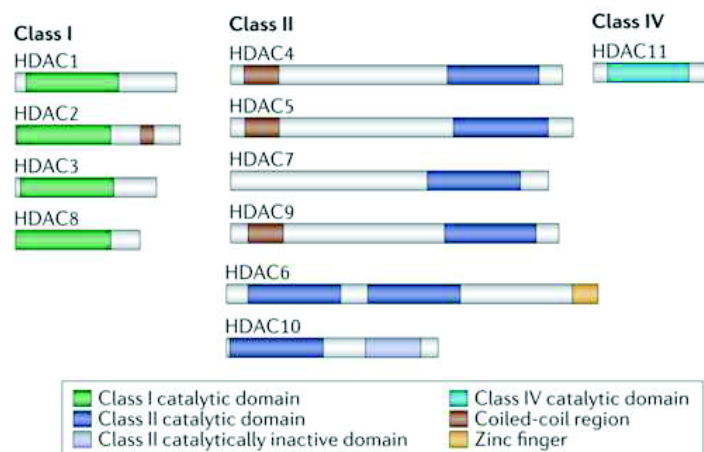


Fig II.5 : famille des HDACs possédant un site catalytique à zinc^[58b]

↳ 1) *Les histones désacétylases*

Pour mieux conserver l'information génétique, les longs brins d'ADN s'enroulent autour de protéines que sont les histones pour former une structure plus compacte que constitue la chromatine (Fig II.6). La condensation de l'ADN sous forme de chromatine limite ainsi l'accès aux facteurs de transcriptions de l'ADN, et constitue un mécanisme de régulation de la transcription du génome. Le contrôle de la structure chromatinienne est donc un mode de contrôle de l'expression génétique. En effet, l'ADN pour s'exprimer doit être décompacté, et pour modifier la structure de la chromatine deux processus enzymatiques sont mis en place, l'un passant par l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP pour altérer les liens histones-ADN à l'intérieur de la chromatine, et l'autre processus fait intervenir des modifications chimiques covalentes de certains résidus des histones.^[61] Les principales modifications post-traductionnelles connues des histones sont l'acétylation, la méthylation, la phosphorylation et l'ubiquitinylation. Nous nous intéresserons principalement à l'acétylation des résidus lysines des histones parmi ces différentes modifications chimiques.

L'hyperacétylation de la queue N-terminale des résidus lysines présents sur les histones est connu depuis longtemps pour avoir un étroit lien avec l'activation des gènes de l'ADN.^[62] Un phénomène physico-chimique pourrait expliquer le lien entre l'acétylation des histones et la relaxation de l'ADN (Fig II.6). En effet, l'acétylation des lysines dans le domaine amino-terminal des histones entraîne la neutralisation de la charge positive des lysines, ce qui mène à la diminution des contacts entre l'ADN nucléosomique et les nucléosomes voisins, et aussi avec certaines protéines régulatrices établissant ou stabilisant l'hétérochromatine. Ces changements donnent naissance à une chromatine plus flexible, où l'ADN est plus accessible.

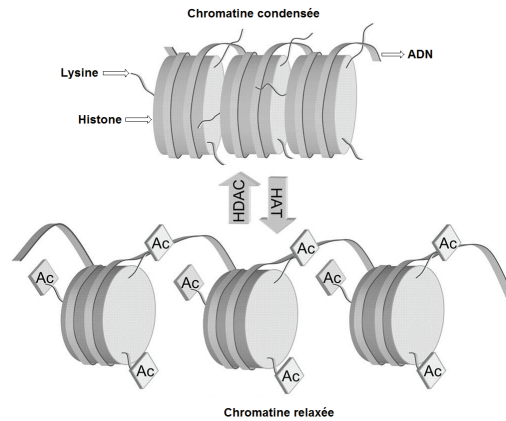


Fig II.6 : contrôle de la structure de la chromatine par les enzymes HDAC et HAT^[63]

Ce phénomène physico-chimique serait le mécanisme principalement utilisé par les parasites *P. falciparum* et *T. gondii* pour contrôler la structure de la chromatine, et le dysfonctionnement des enzymes HDACs pourrait leur être néfaste. En effet, une des hypothèses développées par l'équipe d'Hakimi^[59a] est que la survie du *T. gondii* dépend essentiellement de sa capacité à se différencier de manière quasi permanente (exemple du passage de la forme bradyzoïte à la forme tachyzoïte), et ces phénomènes de différenciation reposeraient essentiellement sur le mécanisme épigénétique à partir des informations stockées dans la chromatine. L'inhibition des enzymes HDACs pourrait donc être un moyen approprié pour empêcher cette différenciation rapide du parasite, pouvant entraîner sa mort. Cette stratégie est d'autant plus prometteuse qu'elle pourrait être plus spécifique aux parasites. En effet, contrairement aux humains qui à travers des facteurs de transcriptions peuvent compenser certaines inhibitions des enzymes HDACs, *T. gondii* possède un nombre relativement faible de facteurs de transcriptions.

↳ 2) Codes épigénétiques des histones

Les différentes combinaisons des modifications chimiques formeraient selon une hypothèse un code (le code épigénétique^[64] des histones) qui serait par la suite lu par des protéines régulatrices et serait finalement traduit en un état chromatinien. Pour ce faire, des domaines protéiques particuliers présents dans plusieurs co-régulateurs transcriptionnels jouent un rôle dans la reconnaissance spécifique de différentes modifications d'histones. Les HDACs et les HATs font partie de complexes multiprotéiques dont les sous-unités (notamment les bromodomains qui reconnaissent sélectivement les queues histones acétylées)^[58] accomplissent des fonctions essentielles, comme l'interaction avec des facteurs transcriptionnels liés à l'ADN ou pour coupler le complexe à des promoteurs spécifiques.^[65]

3) Structure de FR235222 et analogues inhibiteurs des HDACs

Plusieurs composés naturels et synthétiques sont connus pour être des inhibiteurs des histones désacétylases.^[66] Ils sont divisés en deux classes. Les petites molécules acycliques les plus connues sont la trichostatine, le SAHA commercialisé sous le nom de Zolinza par Merck (Fig II. 7), et la psammapline F, un produit naturel découvert en 2003. La deuxième classe est composée de peptides et de depsipeptides cycliques tels que l'HC-toxine, FK228 etc...

Le SAHA en 2008 et le FK228 en 2009 ont reçu l'autorisation de mise sur le marché comme médicament anticancéreux en application cutanée.

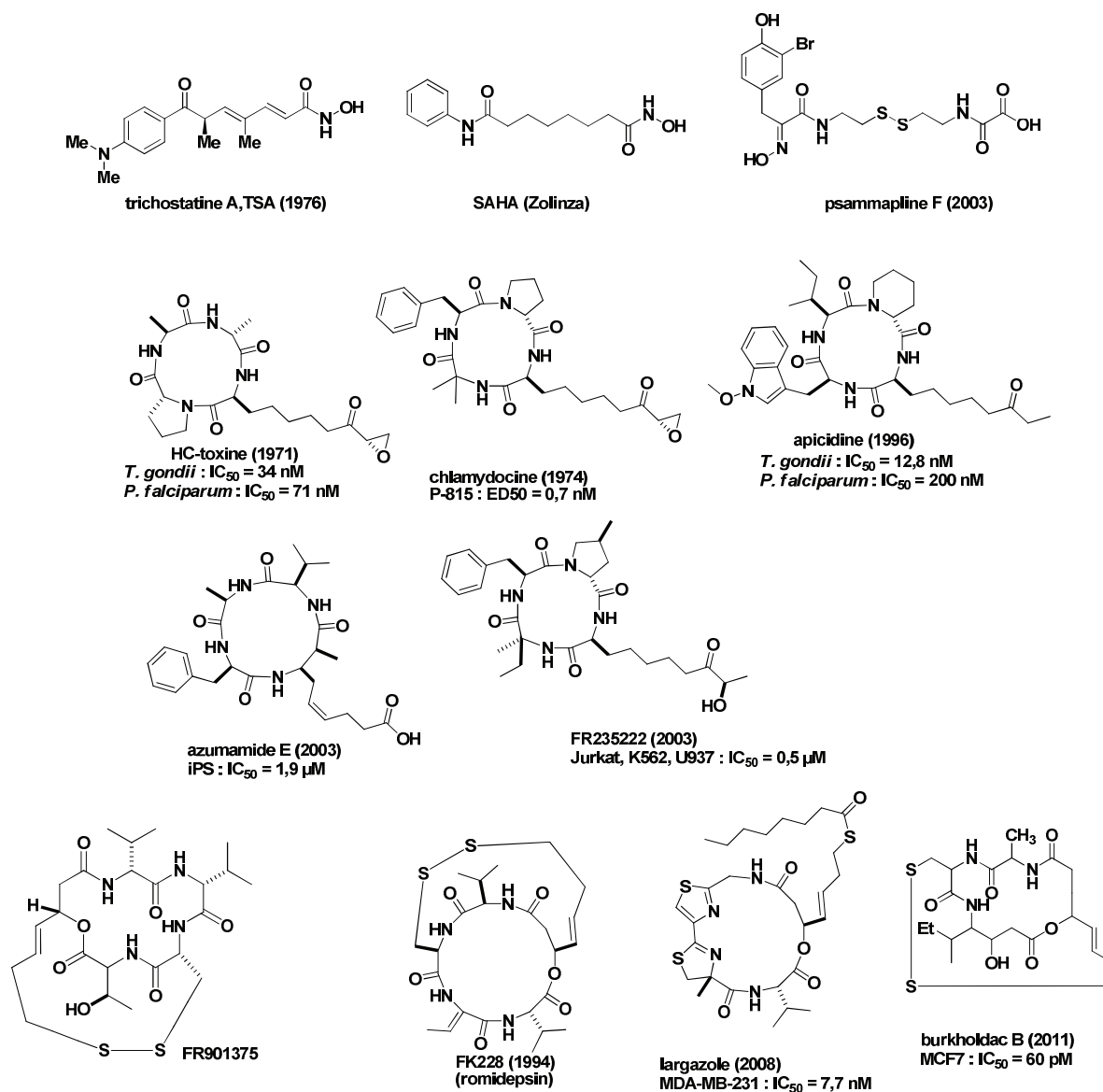


Fig II.7 : HDACi naturels et synthétiques^[66]

Même s'il existe une grande diversité structurale des inhibiteurs des histones désacétylases, tous ces composés peuvent être caractérisés par la présence de trois régions principales que l'on retrouve dans le substrat naturel des histones (*N*-Ac-Lys) (Fig II.8). Il s'agit d'une partie hydrophobe (pour les HDACis acycliques) ou cyclopeptidique (pour les HDACis cycliques), séparée par une chaîne aliphatique de sept à huit atomes de carbones, d'une fonction tête chélatante du zinc pouvant avoir diverses fonctionnalités (hydroxamine, α -hydroxycétone, pont disulfure, thioester).

Plus récemment l'équipe de Schwabe a rapporté la première structure cristallographique de HDAC3 humain.^[67] Les premières structures des enzymes HDACs, co-cristallisées avec des HDACis, révèlent la présence d'un site catalytique contenant du zinc qui interagit avec la partie tête chélatante des HDACis (Fig II.8). La partie cyclopeptidique jouerait le rôle de reconnaissance et de pénétration cellulaire.

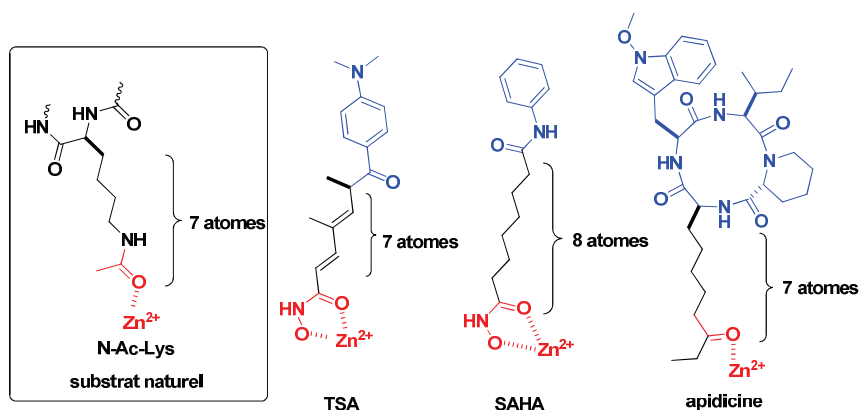


Fig II.8 : structure et activités des HDACis^[66]

Plus récemment l'équipe de Ghadiri^[68] a rapporté une nouvelle molécule **24** HDACi dépourvue de la partie tête chélatante du zinc (Fig II.9). Ce nouveau composé présente de bonnes propriétés inhibitrices des HDACs de la classe I (HDAC1, 2, et 3). Il interagit sur l'ouverture du site actif, mais pas avec le site actif Zn^{2+} .

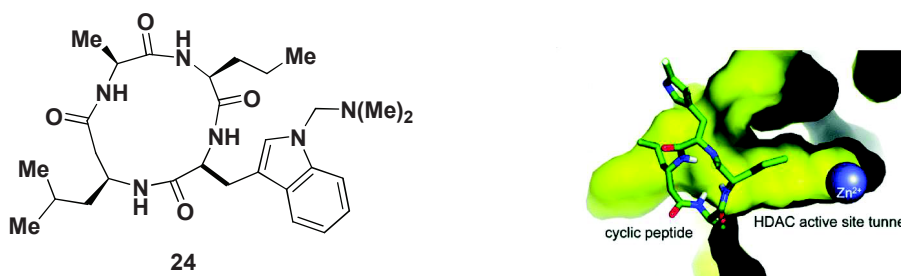


Fig II.9 : interaction de nouvelles molécules HDACis dépourvues de tête chélatante^[68]

↳ 4) Activités de FR235222 et analogues inhibiteurs des HDACs

Le produit naturel FR235222 (voir Fig II.7) isolés en 2003 du bouillon de fermentation d'*Acremonium sp.*^[69] a été d'abord connu pour ses propriétés anticancéreuses. En 2009, Hakimi *et al.*^[70] ont découvert une activité antiparasitaire pour ce produit naturel. En effet, FR235222 possède d'excellentes propriétés antitoxoplasmoses avec comme cible identifiée, HDAC 3 de *T. gondii* (Tg.HDAC3). D'autres composés comme l'HC-toxine et l'apidicine ont aussi présenté des propriétés antipaludiques et antitoxoplasmoses efficaces. La plupart des HDACs ont pour cible les histones désacétylase de la classe I et IIb (voir Fig II.5),^[58] communs au parasite et à l'hôte. L'enjeu serait de développer de nouveaux composés plus sélectifs sur le parasite.

A travers la synthèse de nouveaux analogues, il serait intéressant d'optimiser les propriétés antiparasitaires de FR235222, en ciblant ce nouveau mode d'action d'inhibition des histones déacétylases qui n'a pas encore été utilisé contre ces parasites.

Plus récemment en 2008, le produit naturel d'origine marine, le largazole (voir Fig II.7), a été isolé d'un cyanobactérium du genre *Symploca*.^[71] Ce produit naturel a suscité l'intérêt d'un grand nombre de chercheurs, en raison de sa cytotoxicité remarquable sur plusieurs lignées de cellules cancéreuses. Le largazole se distingue des autres cyclopeptides HDACs par la présence d'une fonction thioester et également par ses propriétés d'inhibition plus sélective sur les HDACs de la classe I (de l'ordre du nanomolaire) par rapport à HDAC6 (Tableau II.2, entrée 1).^[72]

Valeurs des IC₅₀ (nM) des tests *in vitro* de largazole et analogue HDACs possédant une fonction thiol prodrogue. Les tests ont été réalisés dans des conditions différentes* par plusieurs auteurs

entrée	classe	I				IIa				IIb		IV
	HDAC	1	2	3	8	4	5	7	9	6	10	11
1	largazole	20	21	48	-	-	-	-	-	>1000	-	-
2	largazole thiol	0,07	0,07	0,17						25		
3		0,4	0,9	0,7	102	>1000	>1000	>1000	>1000	42	0,5	3
4	FK228	0,12	0,14	0,28						35		
5		35,8				51,2				>500		
6	RedFK228	0,8	1	1,3	>1000	647	>1000	>1000	>1000	226	0,9	0,3
7		1								62,4		

8	25	14,2			$>5.10^5$	14,5				$>5.10^5$		
9	26	4				1,8				40		
10	28	1210				1030				29		
11	29	1270				1140				36		
12	30	900				840				23		
13	SAHA	10	10	15						9		
14	TSA	22			40	20				28		

*

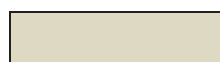
Williams *et al.* en 2008.^[72]Luesch *et al.* 2012.^[73]Nishino *et al.* 2003.^[74a]Nishino *et al.* 2011.^[74b]Miyata *et al.* 2006.^[75]

Tableau II. 2 : sélectivité des HDACs largazole et analogues entre les isoformes d'HDAC

Plusieurs équipes se sont intéressées à la présence de cette fonction thioester, afin de concevoir de nouveaux composés HDACs sélectifs sur les isoformes de la famille des HDACs. En 2010, Luesch et collaborateurs^[76] ont mis en évidence que la fonction thioester du largazole est une fonction prodrogue qui, en présence de protéines cellulaires, est rapidement hydrolysée en largazole thiol libre (Fig II.10).

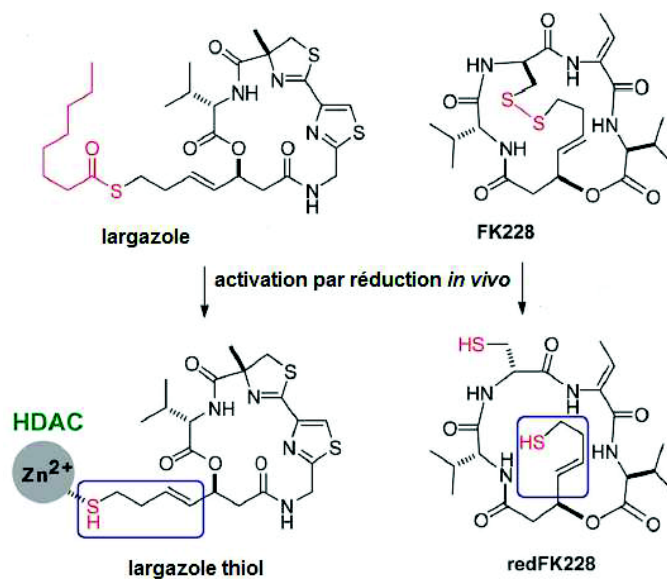


Fig II. 10 : hydrolyse *in vitro* ou *in vivo* de la fonction thioester du largazole^[73]

L'activation du largazole est donc induite par des protéines (estérases et protéases) cellulaires. Ceci expliquerait pourquoi le largazole lui-même présente, lors des tests enzymatiques *in vitro* avec des enzymes HDACs recombinantes, des activités inhibitrices environ 10 fois inférieures à celles de largazole thiol libre (Tableau II.2, entrées 2 et 3). Il est à noter que le largazole thiol libre devient actif sur HDAC6 (entrées 2, 3). En 2011, une structure cristallographique de l'HDAC8 co-cristallisée avec le largazole thiol a été réalisée par l'équipe de Christianson.^[77]

D'autres produits naturels, tels que FK228 (voir Fig II.7), (Tableau II.2, entrées 4 et 5) étaient connus pour leur activation *in vitro* et *in vivo* par réduction de la fonction prodrogue pont disulfure en une fonction thiol libre, interagissant avec le zinc du site catalytique.^[78] FK228, tout comme sa forme réduite (Tableau II.2, entrées 6 et 7), ont également présenté une meilleure sélectivité en faveur des HDACs de la classe I, par rapport aux isoformes HDACs de classe II.

Des composés synthétiques avec des fonctions pont disulfure se sont également révélés plus sélectifs sur des HDACs des classe I et IIa (HDAC4) par rapport à HDAC6. Ces propriétés ont été illustrées notamment à travers les travaux de Nishino *et al.*^[74b] en 2003, à travers la synthèse du composé dimérique **25** (Fig II.11) (Tableau II.2, entrée 8). Plus récemment en 2012, un autre composé synthétique **26** a présenté la même sélectivité (Tableau II.2, entrée 9).^[74c]

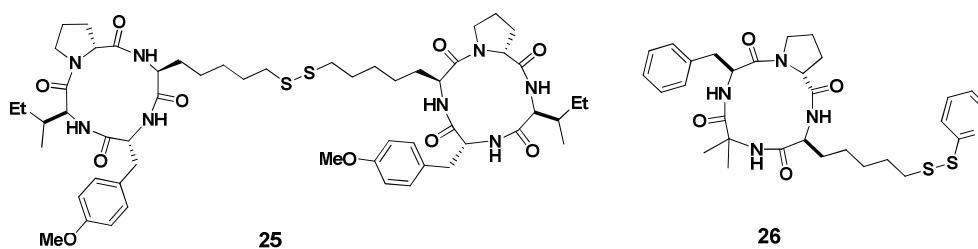


Fig II.11 : analogues synthétiques du largazole

Cependant, il est difficile de conclure que cette propriété d'inhibition sélective des HDACs de la classe I par rapport aux autres HDACs notamment HDAC6, pourrait être due à la nature de la fonction tête chélatante thiol libre. En effet, d'autres composés inhibiteurs des histones désacétylases ont présenté des sélectivités inverses ou contradictoires par rapport à celles observées avec le largazole. En 2006, Miyata *et al.* ^[75] avaient identifié des composés synthétiques (Fig II. 12) qui se sont révélés être des inhibiteurs sélectifs de HDAC6 et n'ont présenté aucune activité sur les HDAC1 et 4 (entrées 10-12).

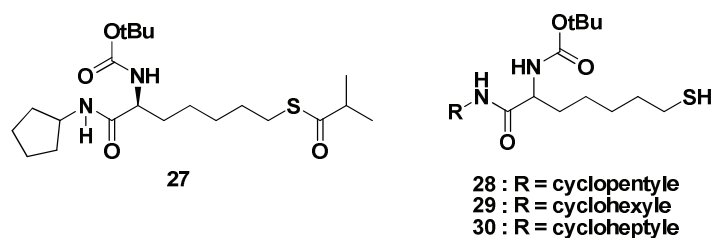


Fig II. 12: inhibiteurs sélectifs de HDAC6

Auparavant, une seule molécule, la tubacine^[79] (Fig II.13), était connue pour ses propriétés d'inhibiteurs sélectifs de HDAC6. La découverte de nouveaux composés agissant sélectivement sur HDAC6, pourrait avoir des domaines d'application très intéressants. En plus d'avoir beaucoup servi comme outils pour l'étude des fonctions biologiques de l'HDAC6, les inhibiteurs sélectifs de l'HDAC6 sont également des potentiels candidats médicaments anticancéreux.^[74d] L'intérêt pour cette cible est dû à la particularité de l'isoforme HDAC6, du fait de sa localisation uniquement cytoplasmique. Il participe également à la désacétylation des protéines telles que l' α -tubuline et la chaperone HSP90, tout en jouant un rôle important dans les fonctions et la stabilité des microtubules.^[80]

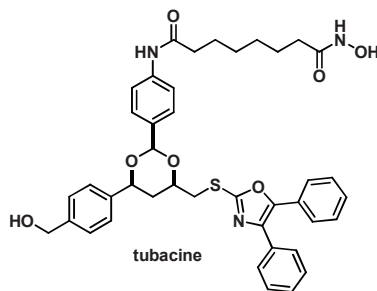


Fig II.13 : inhibiteur sélectif de HDAC6

Il serait intéressant d'étudier les propriétés antiparasitaires de nouveaux analogues du largazole, pour la conception de nouveaux composés inhibiteurs des histones désacétylases plus sélectives sur les différents isoformes HDACS.

Dans ce but, notre objectif sera de réaliser la synthèse de nouveaux cyclopeptides analogues de produits naturels FR235222 et du largazole (voir Fig II.7) afin d'obtenir une grande diversité structurale et fonctionnelle de nouveaux composés antiparasitaires efficaces et sélectifs.

IV) Synthèses antérieures de FR235222 et analogues naturels

La première synthèse de FR235222 a été rapportée par l'équipe de Ma^[81] en 2005 (Schéma II.7). Plus tard, en 2006, l'équipe de Taddei et Gomez-Paloma^[82] ont publié une autre (version de la) synthèse de FR235222 (Schéma II.8). Ces deux premières synthèses utilisent une stratégie linéaire où un résidu acide aminé **31** porte la partie latérale du cyclopeptide (Fig II.10). La synthèse de ce dernier constitue une des étapes clés. Pour la synthèse du résidu acide (2*S*,9*R*)-2-amino-9-hydroxy-8-oxodécanoïque **31**, l'équipe de Ma a utilisé une réaction de métathèse pour coupler les composés **33** et **34**, en employant le catalyseur de Grubbs de seconde génération (Schéma II.7).

La synthèse du résidu acide aminé **36** par l'équipe de Taddei (voir Schéma II.8) a été réalisée en 5 étapes et une réaction de type Wittig-Horner a permis d'obtenir le composé **37**.

Ma et al. 2005

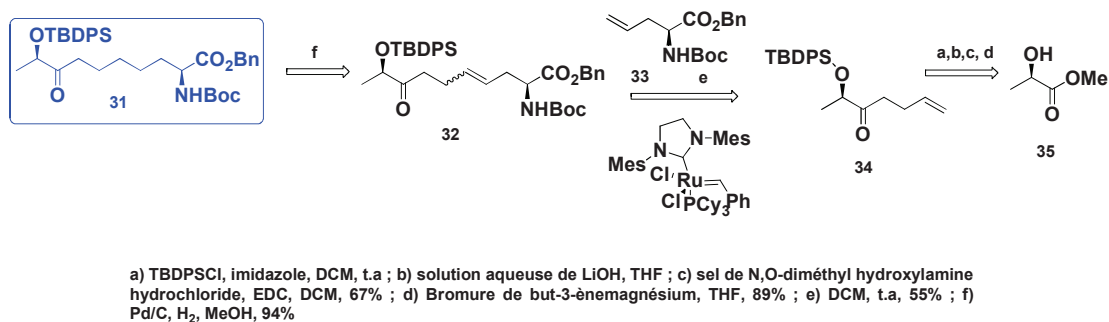
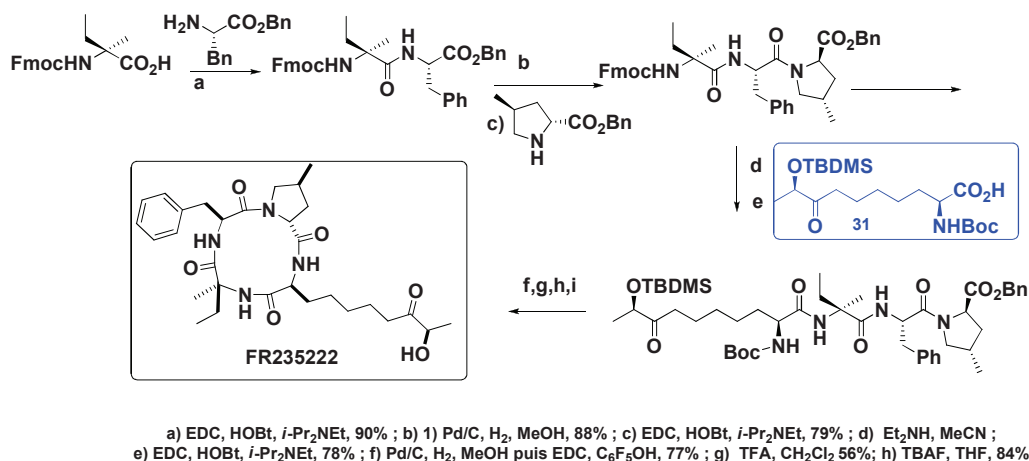


Schéma II.7 : première synthèse de FR235222 en solution

Taddei et Gomez-Paloma 2006

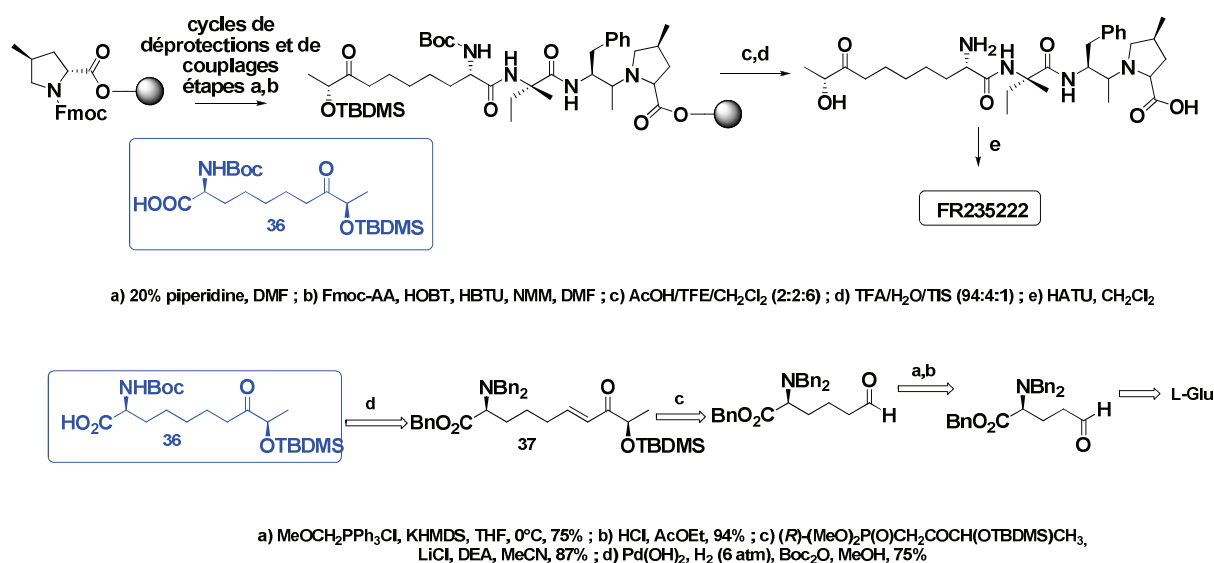


Schéma II.8 : premières synthèses de FR235222 sur support

Les autres synthèses de tétrapeptides cycliques inhibiteurs des histones désacétylases^[66] (Schéma II.9) utilisent la même stratégie linéaire, c'est le cas de la trapoxine B rapportée par Schreiber et collaborateurs en 1996,^[83] la synthèse de l'apidicine A publiée en 2001^[84] ou la synthèse de l'azumamide A décrite par l'équipe de Ganesan en 2007.^[85]

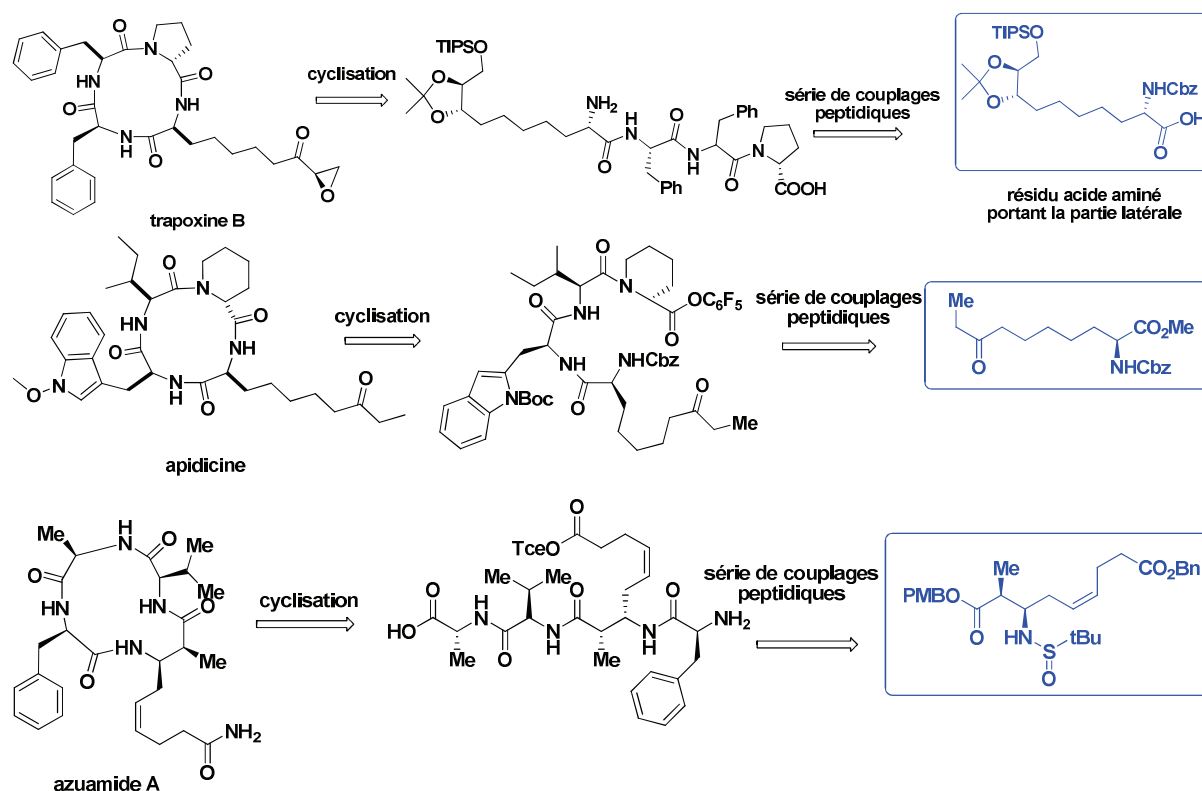
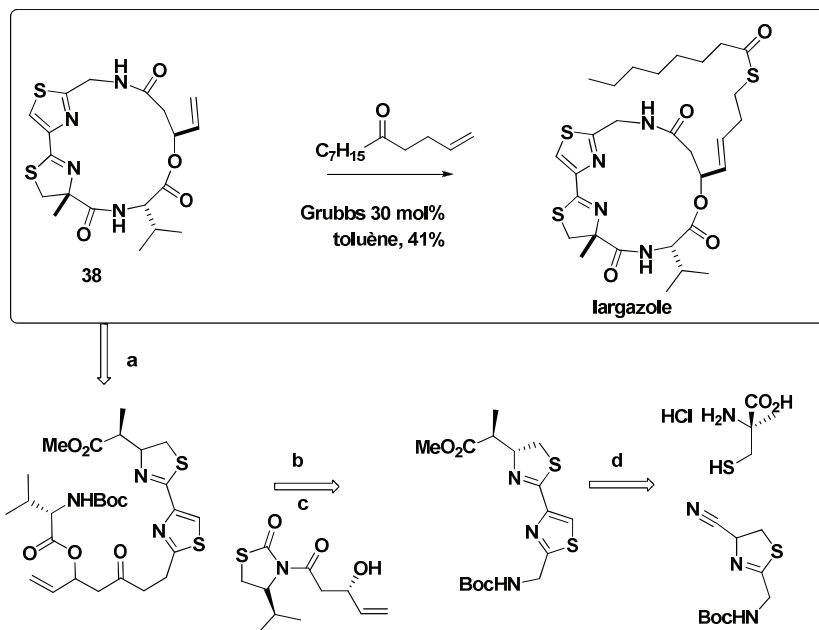


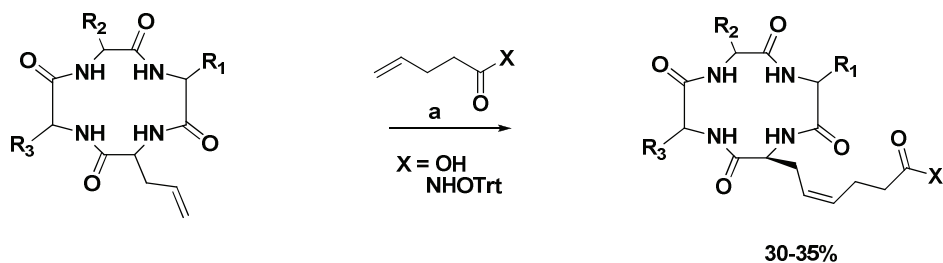
Schéma II. 9 : synthèses linéaires des analogues tétrapeptides cycliques

En 2008, pour la première synthèse du largazole, Luesch *et al.*^[86] utilisent une stratégie convergente, au cours de laquelle ils synthétisent dans un premier temps, le cœur cyclopeptidique portant une fonction alcène terminale **38**. Ce dernier a ensuite été fonctionnalisé par une réaction de métathèse utilisant le catalyseur de Grubbs (Schéma II.10). En 2010, pour la synthèse de nouveaux tétrapeptides cycliques, l'équipe de Bruno^[87] utilise la même stratégie de couplage par métathèse (Schéma II.11).



a) LiOH, THF/H₂O ; TFA; HATU, HOAt, *i*-Pr₂-NEt 64% en 3 étapes ; b) chlorure de 2,4,6-trichlorobenzoyl, Et₃N, DMAP, Fmoc-L-valine, DCM, 99% ; c) TFA, DMAP, 94% en 2 étapes, d) Et₃N, EtOH, 51%

Schéma II.10 : synthèse convergente de Luesch utilisant la métathèse



a) 18% mol catalyseur de Grubbs 2^{ème} génération,
DCM, 300 W, 30 min, 2 cycles

Schéma II.11 : synthèse convergente de Bruno utilisant la métathèse

Cependant, l'utilisation de la réaction de métathèse lors de la dernière étape de synthèse présente un inconvénient. Ce type de couplage fournit en effet des rendements toujours inférieurs à 50%.

Chapitre III :

*Synthèses et évaluations de
nouveaux analogues des aculéatines*

Introduction

Le paludisme est une maladie qui touche principalement les pays pauvres. Il est important pour la conception de nouveaux médicaments de minimiser le coût de la synthèse des différents principes actifs. Pour cette raison nous avons opté pour des stratégies de synthèses courtes *via* l'emploi de réactions en cascades et tandem où l'on crée plusieurs liaisons en une étape sans isoler les différents intermédiaires réactionnels. Les méthodes de synthèse utilisées sont simples et peuvent être appliquées à grande échelle. Cette caractéristique est aussi un atout pour les étapes de développement de la molécule. Dans le contexte de ce manuscrit, une réaction en cascade sera définie comme une réaction qui nécessite l'activation d'une seule fonction dans la molécule pour déclencher une série de réactions aboutissant au produit final (Fig III.1), tandis que dans une réaction tandem, l'activation sera simultanée sur au moins deux fonctions dans la même molécule qui vont converger pour donner le produit final.

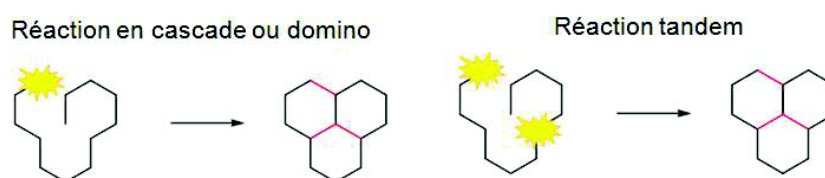


Fig. III.1 : illustration de réactions en cascade et tandem

I) Réactions d'oxydation phénolique en cascade et tandem en synthèse

La désaromatisation des dérivés phénoliques par oxydation est un processus couramment utilisé pour la synthèse biomimétique de divers produits naturels complexes. En fonction de l'environnement dans lequel il se trouve, le phénol présente des réactivités différentes qui peuvent être exploitées pour élaborer de nouvelles structures. Dans sa forme la plus simple, la déprotonation du phénol **39** (Schéma III.1) génère une espèce nucléophile **40** (phénolate). Dans des conditions oxydantes, la perte d'un électron et d'un atome d'hydrogène conduit à la formation des espèces radicalaires transitoires **41a**, **41b**, **41c** stabilisée par mésomérie. La perte d'un deuxième électron conduit à des phénoxéniums, des espèces électrophiles très réactives **42a**, **42b**, **42c** qui pourront subir l'addition de différents nucléophiles.

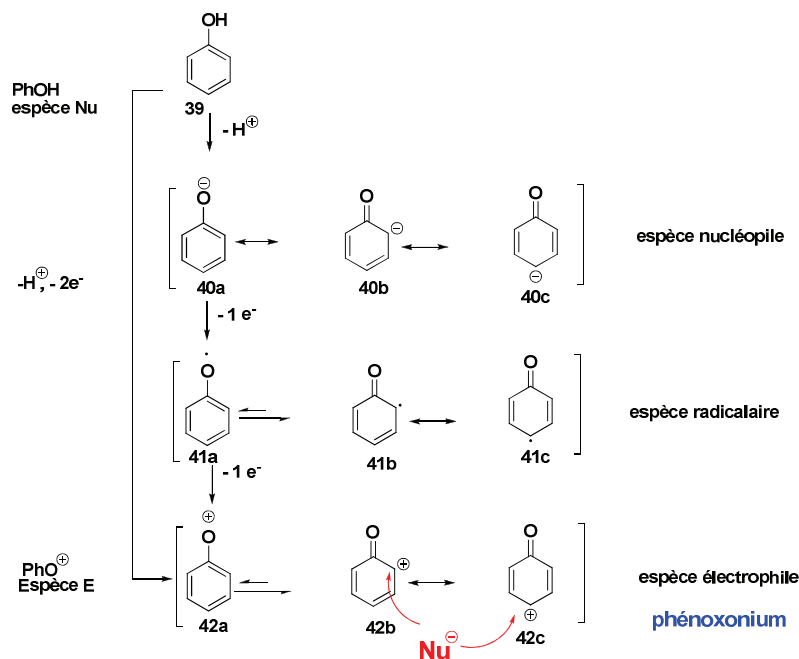


Schéma III.1 : les réactivités du phénol

Différents réactifs et méthodes peuvent être utilisés pour oxyder les dérivés phénoliques et générer l'espèce électrophile phénoxénium. Les réactifs à bases d'iode hypervalent tels que le PIDA ou le PIFA présentent des atouts incontestables par rapport aux réactifs à base de métaux lourds, tels que le tri-acétate de thallium $Tl(OAc)_3$ et le di-acétate de mercure $Hg(OAc)_2$, ou le tétra-acétate de plomb $Pb(OAc)_4$ utilisé par Nicolaou^[88] pour la synthèse du bisorbicillinol (Schéma III.2). L'oxydation anodique des dérivés phénoliques par voie électrochimique est également une méthode efficace. La synthèse totale de divers produits naturels^[89] par oxydation phénolique induite par différents réactifs peut être illustrée à travers plusieurs exemples de la littérature.

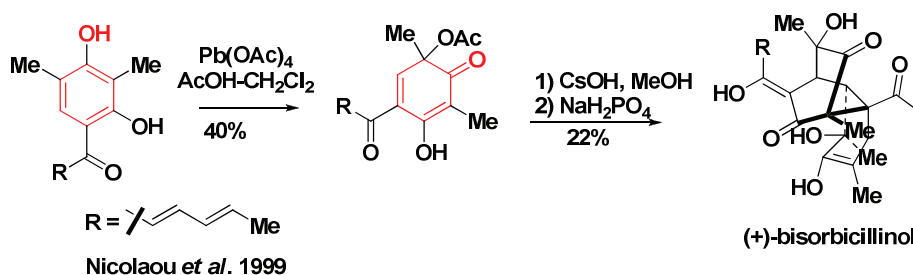


Schéma III.2 : oxydation phénolique avec des réactifs à base de métaux lourds

Des exemples de réactions d'addition sur le phénoxénium conduisant à la formation de liaison C-O sont les plus courants (Schéma III.3). En 2006, pour la synthèse actuellement en cours de la bacchopétiolone, un sesquiterpène dimérique, par l'équipe de Wood.^[90] Les auteurs utilisent une stratégie de réaction d'oxydation phénolique pour générer un intermédiaire phénoxénium **44**, qui subira l'addition d'une fonction carboxylate pour donner le composé **45**. Ce dernier dimérise

spontanément par réaction de Diels-Alder pour former en une étape le squelette de la bacchopetiolone **46**.

Pour la synthèse de la puupehenone en 2002, l'équipe de Quideau^[91] utilise également le piégeage de l'intermédiaire phénoxénium **48** par une fonction hydroxyle pour former le composé **49**. Une réaction de réarrangement, provoquée par l'oxydation *in situ* du composé **49**, a permis d'obtenir la puupehenone de manière concise.

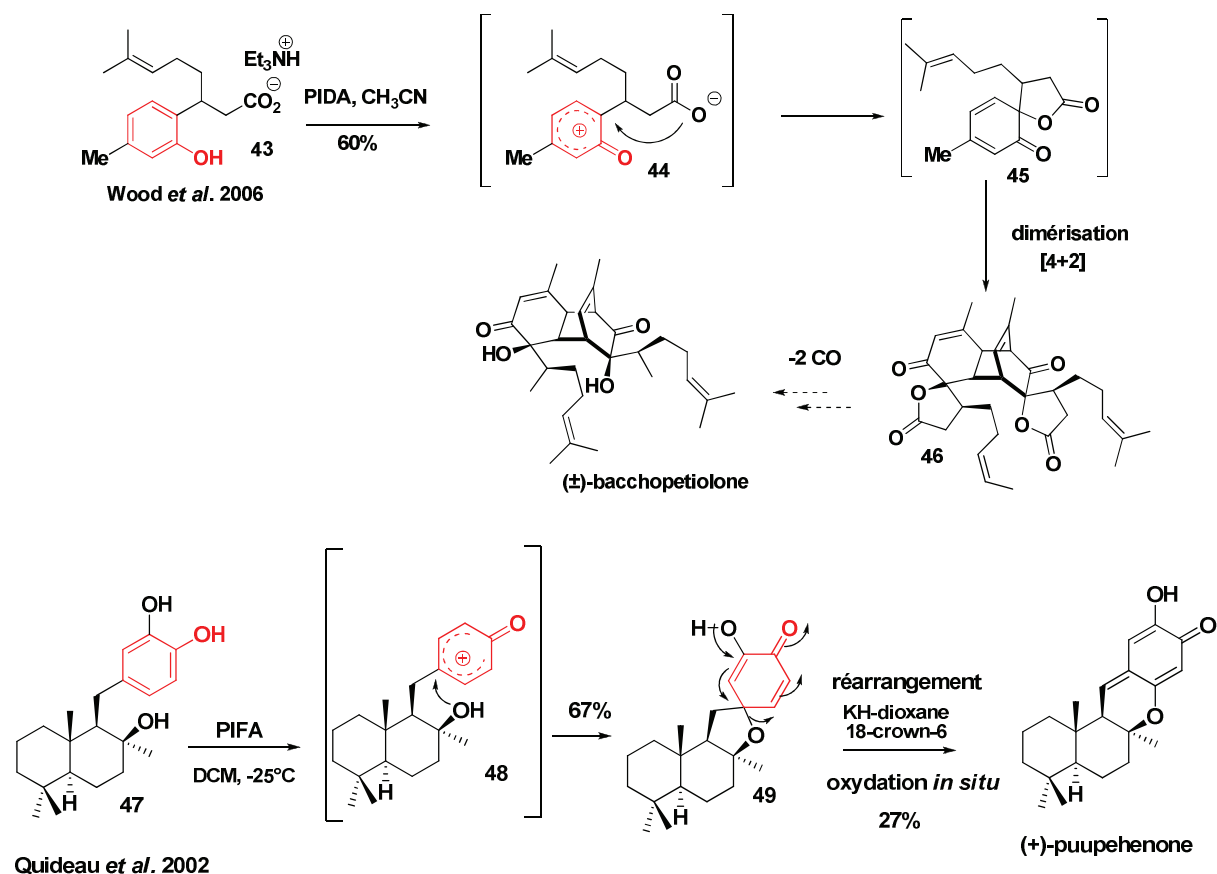


Schéma III.3 : formation de liaisons C-O en cascade

Seulement deux exemples de réactions d'addition de fonctions amines secondaires sur le phénoxénium conduisant à la formation de liaison C-N ont été rapportés par Honda^[92] en 2002 et Sorensen^[93] en 2000 (Schéma III.4). L'oxydation du composé **50** génère l'intermédiaire phénoxénium **51** (très réactif), qui subit l'addition intramoléculaire de la fonction amine secondaire cyclique, pour fournir en seulement une étape le composé **52**. L'équipe de Sorensen utilise également le piégeage par une fonction amine secondaire de l'intermédiaire phénoxénium **54** pour former le composé **55** en seulement une étape à partir de **53**.

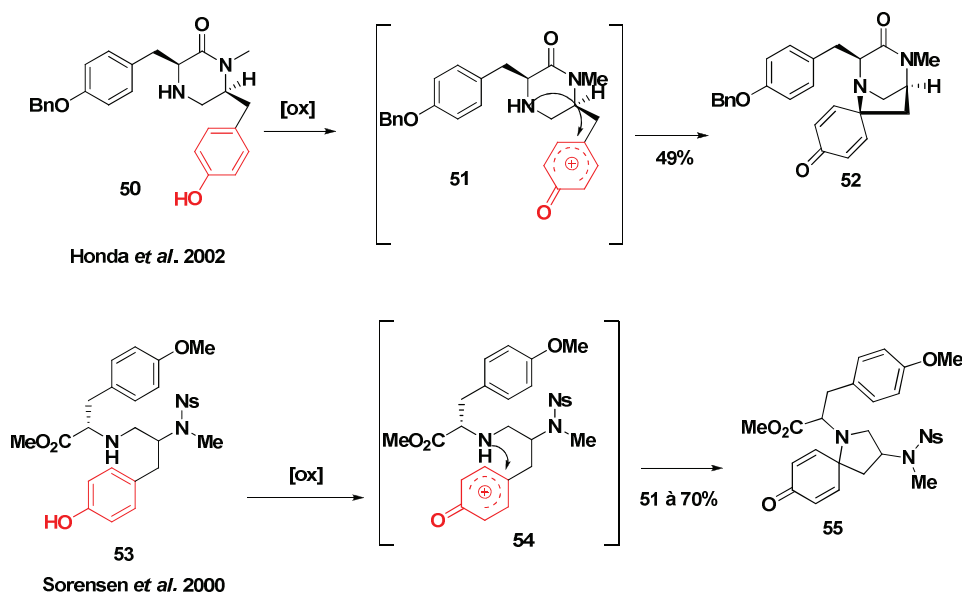


Schéma III.4 : formation de liaisons C-N

Des exemples de réactions d'oxydation phénolique avec formation de liaisons C-C existent et ont été rapportés notamment par Kita, Nicolaou et Canesi (Schéma III.5). D'après les travaux de Kita,^[94] la (+)-maritidine, un alcaloïde naturel, peut être obtenu facilement à partir du composé **58**, qui est synthétisé en seulement une étape à partir de **56**, et *via* la formation de l'intermédiaire phénoxénium **57**. Cet intermédiaire activé conduit spontanément à la formation de liaison C-C par une réaction de couplage aryl-aryl pour donner le composé **58**. L'équipe de Nicolaou^[95] utilise une réaction en cascade d'addition d'une fonction alcène sur le phénoxénium **60** conduisant au composé **61**, l'intermédiaire clé qui a permis de synthétiser par la suite la platensimycine. Des réactions de formation de liaison C-C ont aussi été rapportées par Canesi,^[96] notamment à travers des exemples de réactions d'addition de fonctions alcynes sur l'intermédiaire phénoxénium **64**, conduisant également à la formation de liaison C-C et d'un intermédiaire cationique **65**, qui subit à son tour l'addition d'un nucléophile externe pour donner le composé **66** stable avec de bons rendements. D'autres exemples de formation de liaison C-C dans des composés **67** et **68** (schéma III.6) ont été rapportés par l'équipe de Waldvogel^[97] et de Swenton.^[98] Ces derniers utilisent des réactions d'oxydation anodique par électrochimie pour déclencher des processus de réactions en cascade d'oxydation phénolique conduisant à la formation de composés complexes.

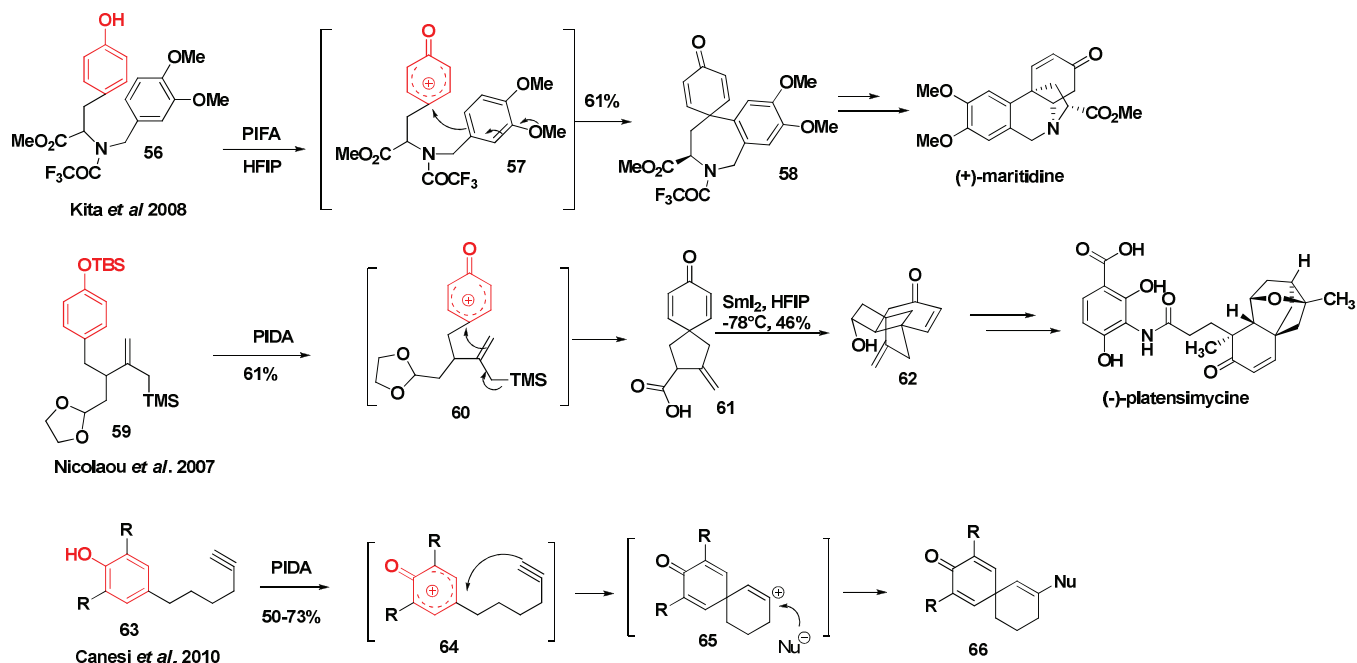


Schéma III.5 : formations de liaison C-C

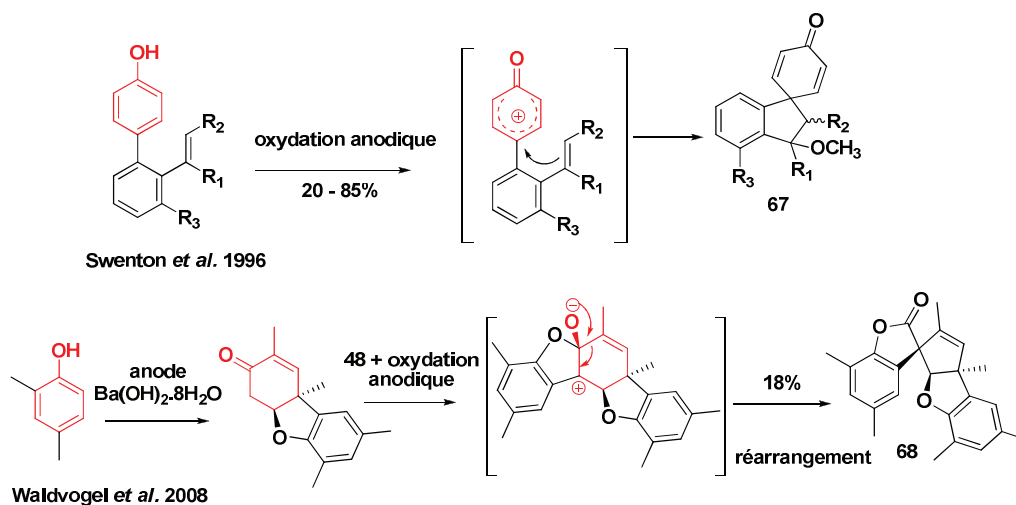


Schéma III.6 : formation de liaisons C-C par oxydation anodique

Plusieurs synthèses ont été réalisées en utilisant la stratégie de désaromatisation des dérivés phénoliques par oxydation comme initiateur de réactions en cascade ou tandem. La synthèse des composés complexes **71a** et **71b** a été réalisée par Canési^[99] via une méthode élégante de réaction en cascade induite par oxydation phénolique (Schéma III.7). L'oxydation du composé **69** génère d'abord l'intermédiaire phénoxénium **70**, suivie d'une série de réactions en cascade, commençant par l'addition d'un nucléophile externe sur la fonction alcyne.

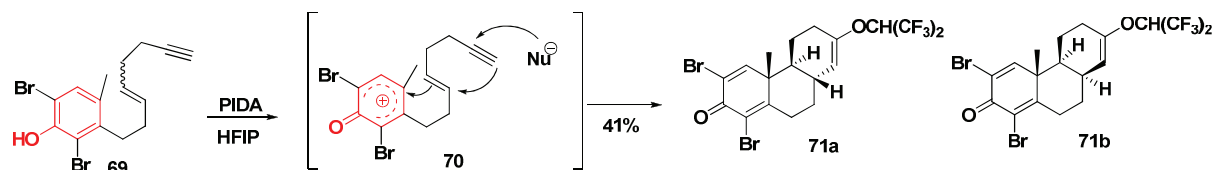
Canési *et al.* 2011

Schéma III.7 : exemple de réaction en cascade d'oxydation phénolique

Ciufolini^[100] fut le premier à appliquer le concept de réactions tandem d'oxydation phénolique. L'activation simultanée des dérivés phénoliques et des fonctions oximes permet de générer deux intermédiaires très réactifs, le phénoxénium et le dipôle oxyde oxime **73**, qui vont interagir pour conduire aux composés polycycliques **74** ou **75** (Schéma III.8). En 2009, Sorensen *et al.*^[101] ont rapporté une synthèse efficace de la cortistatine A, en reprenant la réaction tandem d'oxydation phénolique et d'oxydation de l'oxime développée par Ciufolini. Ils arrivent ainsi à former le noyau spirocyclohexa-2,5-diénone **77** qui va subir une réaction de cycloaddition dipolaire [3+2] intramoléculaire de l'oxime permettant d'obtenir facilement le produit final.

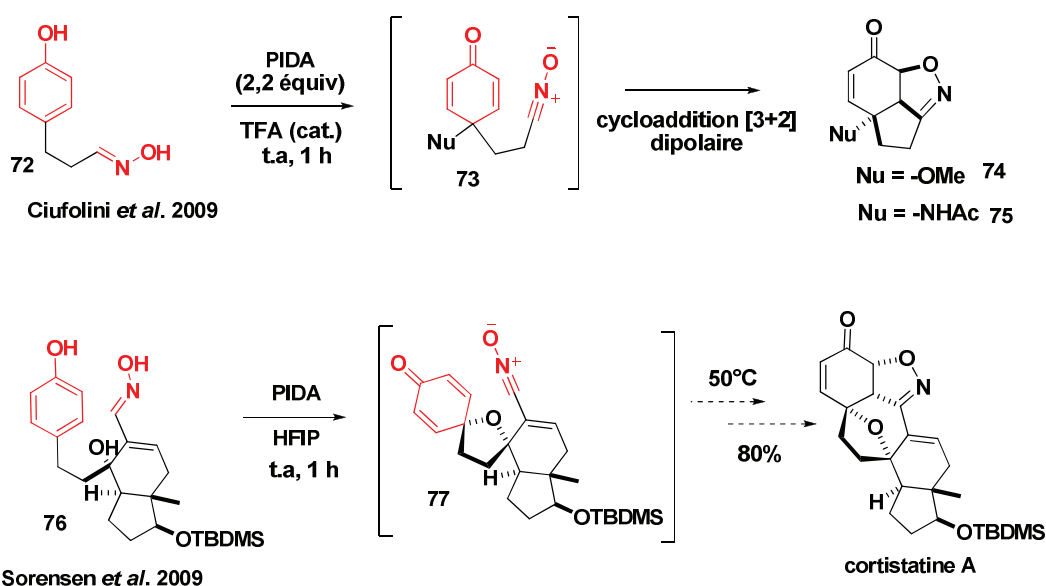


Schéma III.8 : exemples de réactions tandem d'oxydation phénolique

L'avantage des réactions en cascade ou tandem d'oxydation phénolique reste principalement la génération d'espèces très réactives qui une fois formées peuvent subir d'autres réactions ou réarrangements afin de former plusieurs liaisons en seulement une étape. Cependant, pour la synthèse de composés biologiquement actifs dans des conditions douces et plus respectueuses de l'environnement, le choix du réactif oxydant devient très important. Les réactifs à base d'iode hypervalent sont des oxydants de choix qui seront par la suite les seuls utilisés dans les travaux de cette thèse.

II) Stratégies de synthèse de nouveaux analogues des aculéatines

Durant les travaux de cette thèse, nous nous sommes intéressés à la synthèse de nouveaux composés analogues des aculéatines, en utilisant des approches de réactions en cascade et tandem d'oxydation phénolique. Un de nos objectifs était de mettre en évidence l'addition sur l'intermédiaire phénoxénium d'une fonction cétone. En effet, l'addition d'une fonction cétone en position γ (Schéma III.9) pourrait conduire à la formation d'un intermédiaire spiro-oxocarbénium, qui pourrait à son tour subir l'addition d'un nucléophile inter ou intramoléculaire et former le squelette spirocyclohexa-2,5-diénone des aculéatines et de ses analogues.

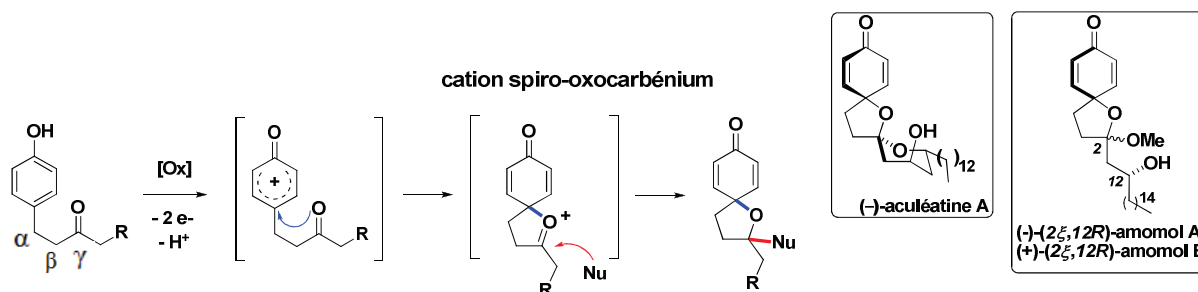


Schéma III.9 : formation de squelette spirocyclohexa-2,5-diénone *via* le cation spiro-oxocarbénium

Les conditions réactionnelles utilisées lors des synthèses reportées des aculéatines (Schéma III.10) ne permettent pas de confirmer ce type de mécanisme réactionnel passant par un cation spiro-oxocarbénium. Du fait de la présence de l'eau dans le milieu réactionnel, le mécanisme passant par la voie I, avec formation d'un intermédiaire *para*-quinol **80** reste possible. Tout comme les aculéatines, les amomols peuvent être obtenus suivant la voie I, en partant d'un intermédiaire clé phénolique **78** (schéma III.10), qui dans des conditions oxydantes va générer l'intermédiaire phénoxénium **79**. Ce dernier pourrait subir l'addition intermoléculaire de H₂O présent dans le milieu pour conduire au *para*-quinol **81** qui cycliserait spontanément pour donner l'hémiacétal **82**. L'hémiacétal en présence de MeOH en milieu acide permettrait d'obtenir les amomols en 2 étapes. Notre dessein est de réaliser la synthèse des amomols en seulement une étape à partir de **78**, *via* la formation de l'intermédiaire réactionnel spiro-oxocarbénium **83**, qui serait le produit de l'addition d'un groupement carbonyle (cétone) sur un intermédiaire phénoxénium **79** (voie II). Cette synthèse nous offrira ainsi l'opportunité de prouver l'existence de l'intermédiaire spiro-oxocarbénium **83**.

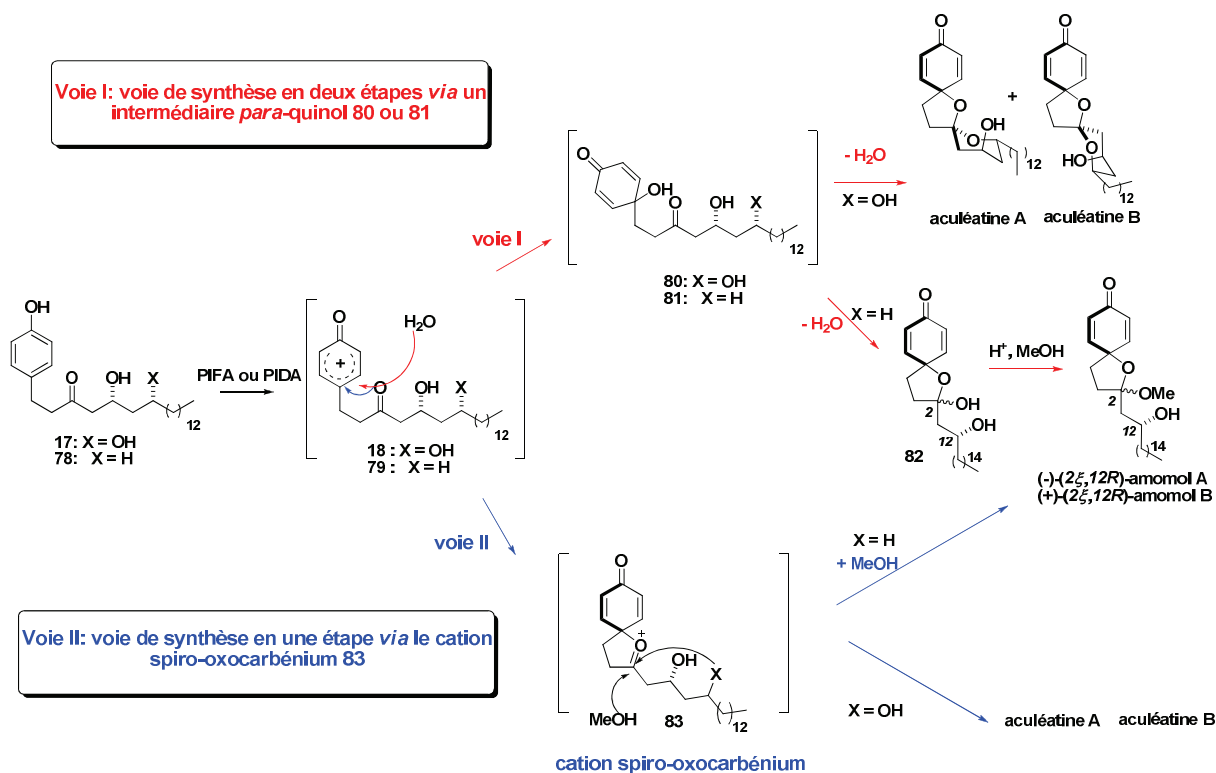


Schéma III.10: voies de synthèses des amomols et aculéatines

1) Synthèse des amomols par réaction d'oxydation phénolique en cascade via le cation spiro-oxocarbénium

Afin d'obtenir les amomols selon la voie II (Schéma III.10), il a été nécessaire de mettre au point les conditions opératoires favorisant la formation du cation spiro-oxocarbénium à partir d'un modèle simplifié **84** de l'intermédiaire clé (Schéma III.11). L'enjeu de cette approche est de favoriser l'addition intramoléculaire du groupement carbonyle en position γ sur le phénoxénium **85** par rapport à l'addition externe du MeOH qui conduira à la formation du produit non désiré **88**. Le cation spiro-oxocarbénium formé **86** subira ensuite l'addition externe du MeOH pour former le squelette des amomols **87**. Pour cela, différents réactifs à base d'iode hypervalent (III) et différents solvants ont été testés. Les résultats obtenus ont été rassemblés dans le tableau III.1.

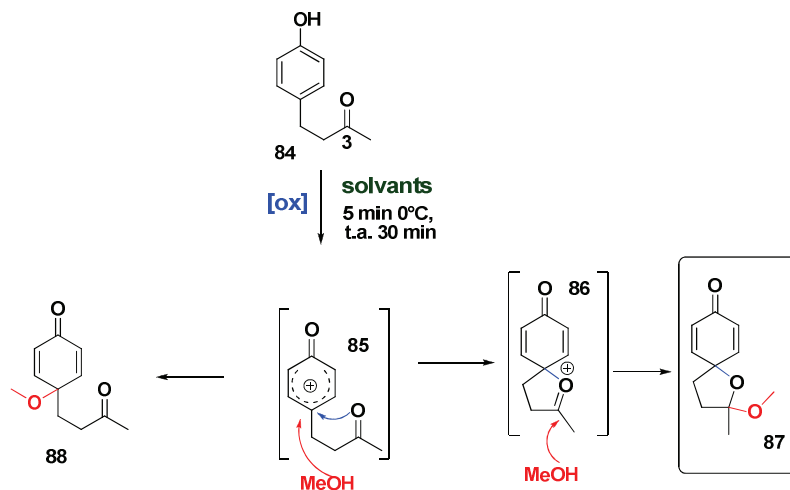


Schéma III.11 : mise au point de conditions favorables à la formation du cation spiro-oxocarbénium

entrée	[Ox]	solvants	rendements 87 (%)	rendements 88 (%)
1	PIDA	MeOH	35	25
2	PIFA	MeOH	39	44
3	PIDA	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (10 équiv)	68	8
4	PIDA	acétone/MeOH (10 équiv)	34	8
5	PIDA	CH ₃ CN/MeOH (10 équiv)	64	13
6	PIDA	HFIP/MeOH (10 équiv)	75	0
7	PIFA	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (10 équiv)	-	-
8	PIFA	HFIP/MeOH (10 équiv)	2	-

Tableau III.1 : mise au point des conditions de formation du cation spiro-oxocarbénium

Lorsque nous avons réalisé la réaction dans du MeOH (100%), nous avons isolé les deux produits **87** et **88** avec respectivement un rendement de 35% et de 25% (Tableau III.1, entrée 1) en utilisant le PIDA, et avec 39% et 44% en utilisant le PIFA (entrée 2). En mettant seulement 10 équivalents de MeOH dans le milieu avec d'autres solvants tels que CH₂Cl₂, CH₃CN, l'acétone ou HFIP (entrées 3-6), nous observons une nette sélectivité en faveur de la formation du produit désiré **87**. Pour la suite de la synthèse, nous avons retenu les deux meilleures conditions du tableau qui ont permis d'obtenir de bonne sélectivité en faveur de la formation du composé **87** avec de bons rendements. Il s'agit des conditions avec 10 équivalents de MeOH dans du CH₂Cl₂ (entrée 3), qui conduisent très majoritairement au composé **87** avec 68% de rendement et seulement 8% pour **88**. Lorsque nous avons remplacé le CH₂Cl₂ par le HFIP (entrée 6), nous avons observé uniquement la formation du composé **87** avec 75%. Le choix du réactif oxydant est aussi déterminant pour la synthèse. L'utilisation du PIFA à la place du PIDA dans les deux meilleures conditions de solvant retenues (entrées 7 et 8) conduit à la dégradation du produit de départ **84**. Le produit final doit-être sensible en milieu acide, notamment en présence des sous produits (trifluoroacide acétique TFAA) générés par PIFA *in situ*.

↳ 2) Synthèses des amomols en série racémique et énantiopure via la formation du cation spiro-oxocarbénium

Afin de tester les conditions réactionnelles mises au point et d'optimiser la réaction, nous avons dans un premier temps réalisé la synthèse en série racémique des amomols (Schéma III.12). Les amomols A et B ont été obtenus en seulement 4 étapes à partir du produit commerciale **84**. Pour diminuer le coût de cette synthèse nous avons choisi le CH₂Cl₂ lors de la réaction d'oxydation phénolique au lieu du HFIP qui a permis d'obtenir une meilleure sélectivité en faveur du produit spiranique **87**.

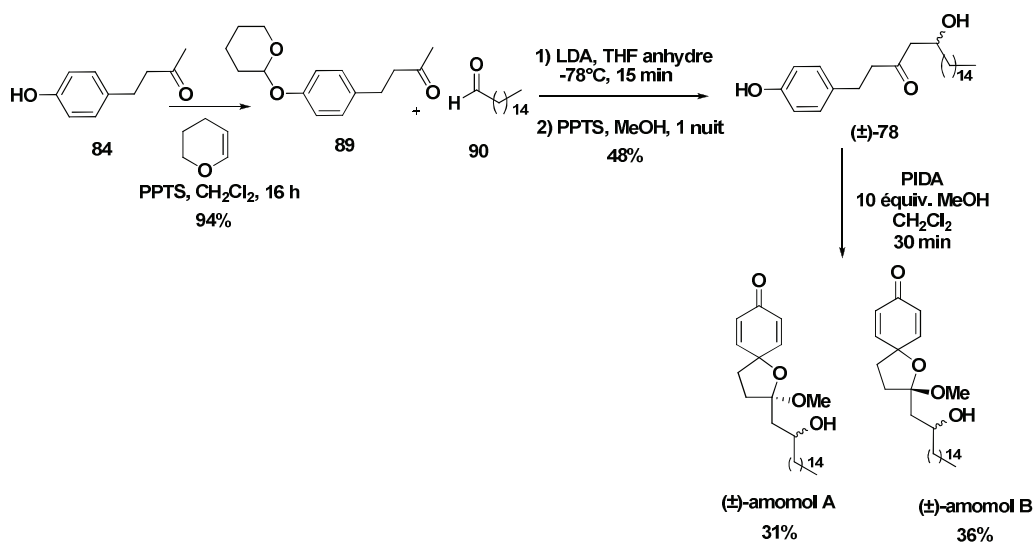


Schéma III.12 : première synthèse racémique des amomols

Après avoir trouvé les conditions optimales pour obtenir les amomols en série racémique, nous nous sommes ensuite intéressés à la synthèse des amomols naturels énantiopures (configuration du carbone C12 est *R*) (Schéma III.13) et non naturels (configuration du carbone C12 est *S*).

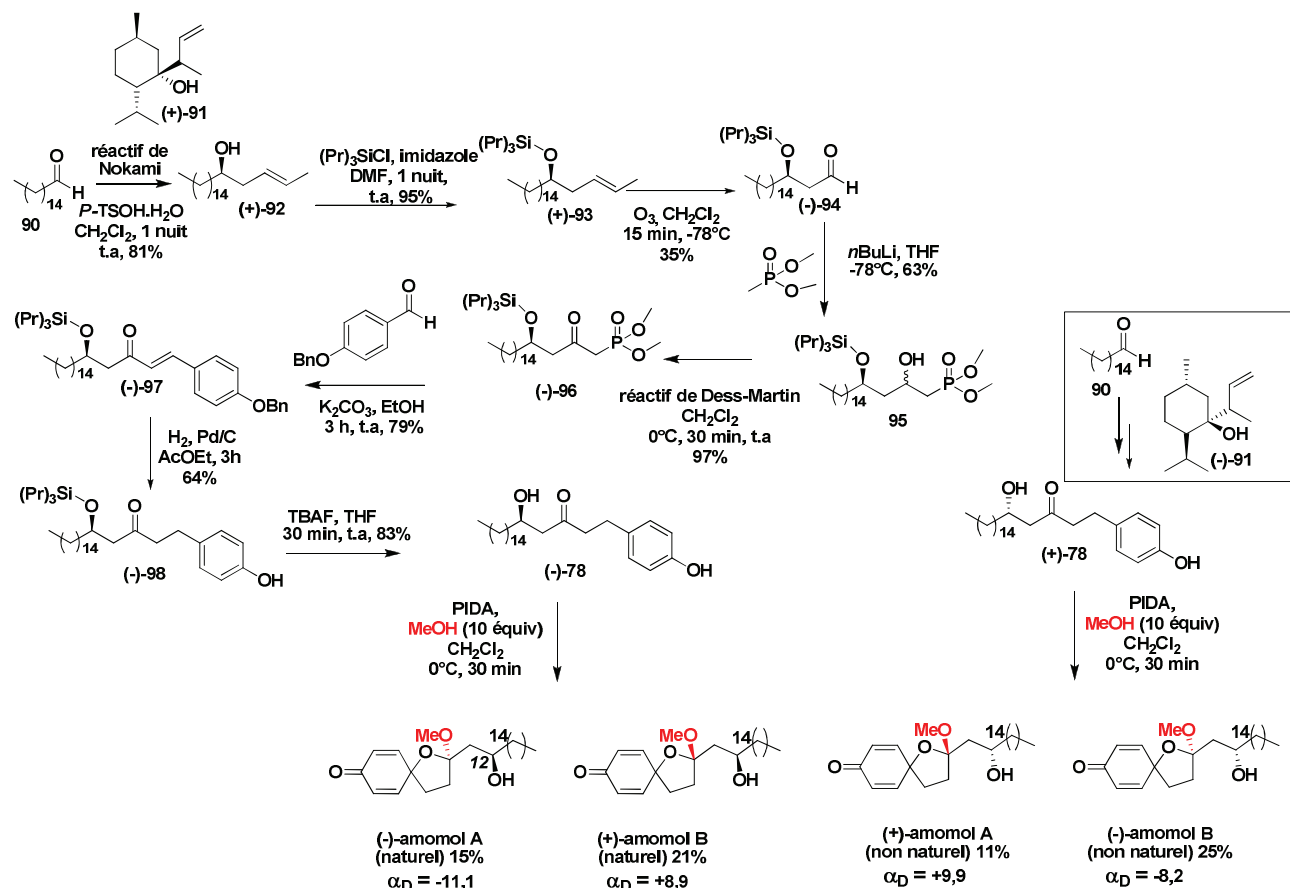


Schéma III.13 : Synthèse énantiopure des amomols naturels et non naturels

La synthèse des amomols énantiopures a été achevée en seulement 9 étapes à partir de l'aldéhyde **90**. Dès la première étape, nous avons introduit la chiralité en utilisant le réactif de Nokami^[102] (1*S*,2*S*,5*R*)-1-(1-méthylallyl)menthol **(+)-91** pour obtenir le composé **(+)-92**. Après la protection de la fonction alcool par un groupement tripropylsilyle, une réaction d'ozonolyse nous a permis de former l'aldéhyde **(-)-94**. Une réaction d'alkylation du diméthoxy-méthylphosphonate sur l'aldéhyde **(-)-94** conduit à la formation d'un réactif de type Wittig-Hörner **95**. La fonction alcool présente sur ce dernier a été oxydée dans des conditions de Dess-Martin pour former le composé **(-)-96**, qui a subi une addition de Wittig-Hörner pour donner le composé **(-)-97**. Après la réaction de réduction en 'un pot' de la double liaison et du groupement benzyle, suivie de la déprotection du groupement silylé au TBAF, nous obtenons l'intermédiaire clé réactionnel **(-)-78** énantiopure qui a conduit par la suite aux amomols A et B naturels optiquement actifs. Dans les mêmes conditions, les amomols A et B non naturels ont été

obtenus à partir de l'aldéhyde **90** et en utilisant le réactif de Nokami (1*R*,2*R*,5*S*)-1-(1-méthylallyl)menthol (–)-**91**.

3) Synthèse de nouveaux analogues des amomols via la formation du cation spiro-oxocarbenium

D'autres composés analogues des amomols ont été obtenus par la suite, soit en modifiant la nature du nucléophile alcool qui s'additionne sur le cation spiro-cyclohexa-2,5-diénone (Schéma III.14), soit à partir des dérivés substitués du phénol (Schéma III.15). En faisant la réaction d'oxydation phénolique dans 100% MeOH, nous favorisons la formation de la forme ouverte **99** par rapport aux amomols. Ce composé pourra nous permettre d'étudier l'influence de la forme spiranique dans l'activité antipaludique. La synthèse des composés **100a** et **100b** permettra d'étudier les effets de la présence d'une deuxième chaîne grasse sur l'activité biologique.

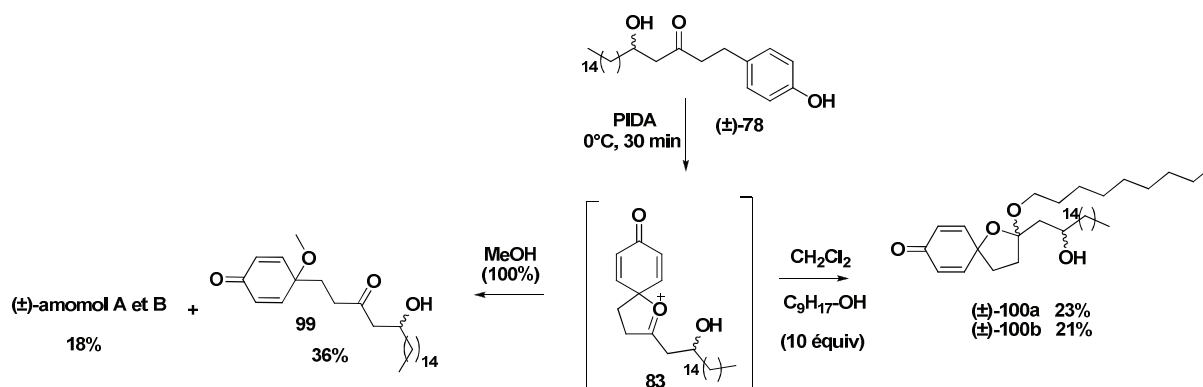


Schéma III.14 : synthèse de nouveaux analogues des amomols

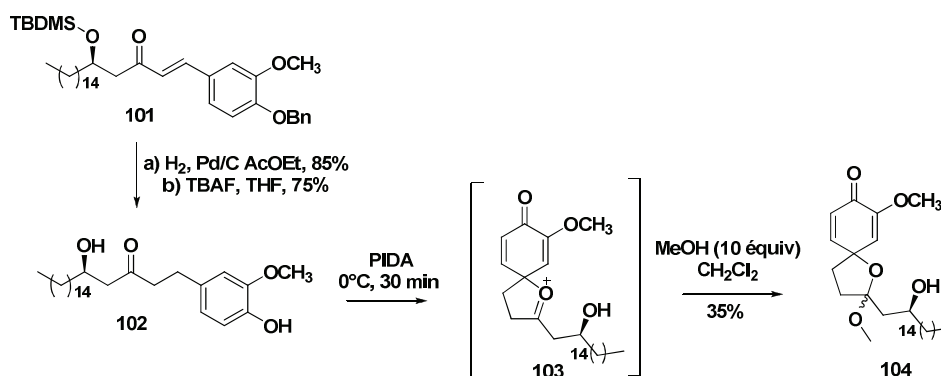


Schéma III.15 : synthèse de l'analogue substitué des amomols

L'analogue **104** a été obtenu par oxydation phénolique du composé **102**. Un mélange de diastéréoisomères a été isolé.

4) Synthèse de nouveaux analogues des amomols via la formation du cation vinyl spiro-oxocarbénium

Nous nous sommes ensuite intéressés à une autre réactivité du phénoxénium qui serait le piégeage d'une fonction carbonyle- α,β -insaturée **105** afin de générer un intermédiaire vinyl spiro-oxocarbénium **106** (Schéma III.16). Avec ce nouvel intermédiaire, nous générons potentiellement deux centres électrophiles en position 1,2 et 1,4 du carbonyle pouvant subir des additions nucléophiles. Notre objectif était de voir la compétition entre la position 1,2 et 1,4 lors de l'addition de différents nucléophiles (Schéma III.17).

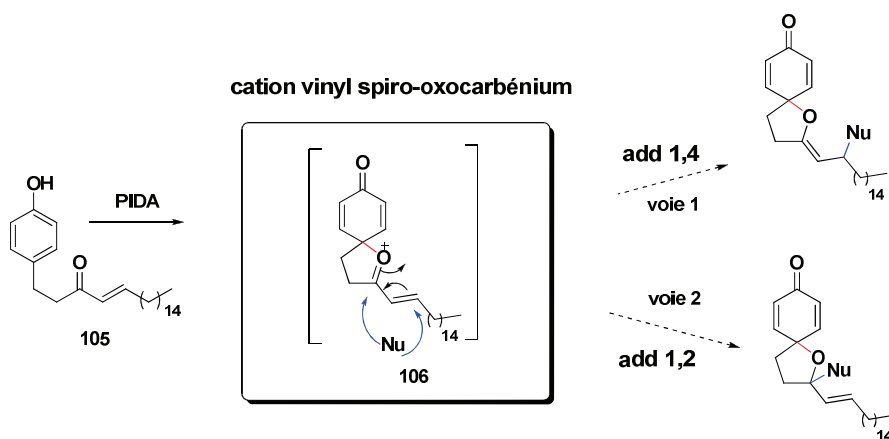


Schéma III. 16 : réactivité du cation vinyl spiro-oxocarbénium

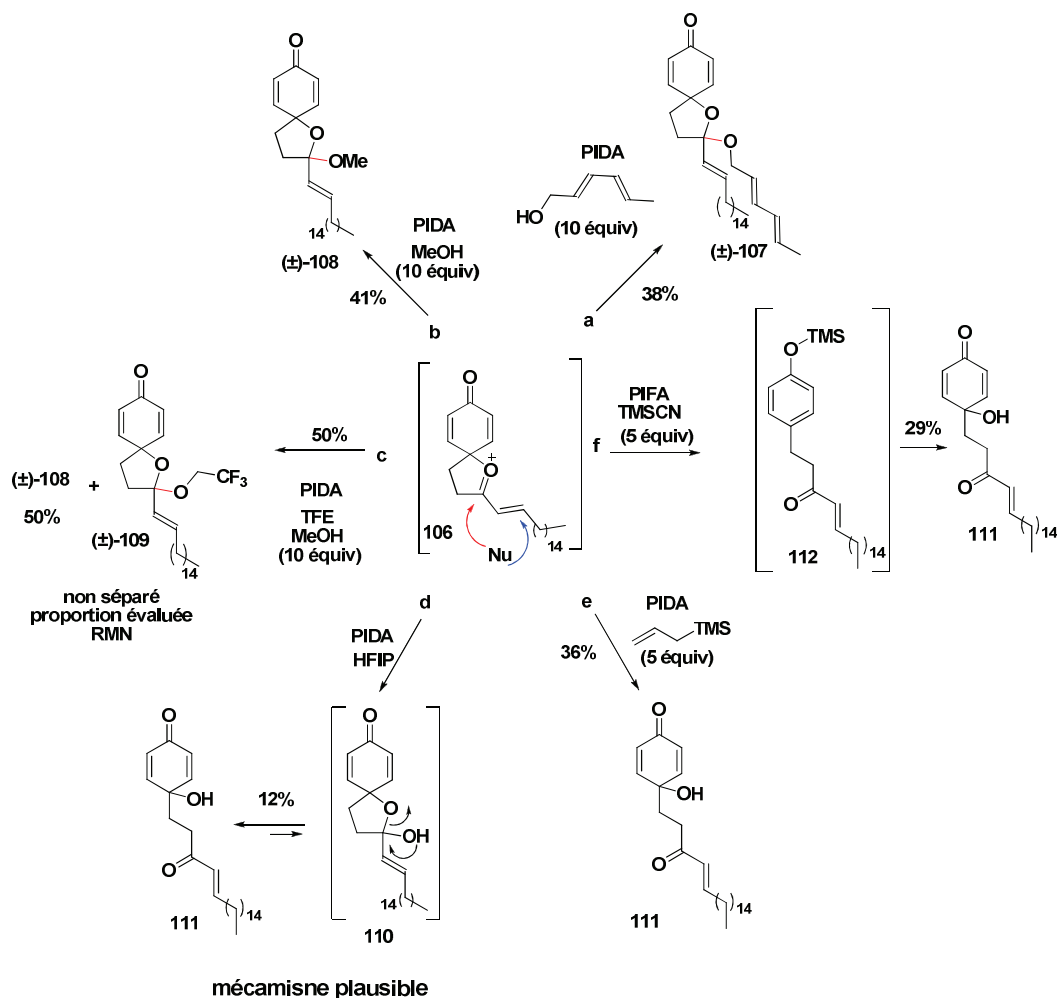


Schéma III.17 : addition de différents nucléophiles sur le vinyl spiro-oxocarbénium

Le cation vinyl spiro-oxocarbénium **106** en présence des nucléophiles *(2E,4E)*-hexa-2,4-dien-1-ol (voie a, Schéma III.17), MeOH (voie b) ou TFE (voie c) conduit uniquement à la formation de produits d'addition 1,2. En mettant le HFIP comme nucléophile (voie d), du fait de son environnement plus encombré que le MeOH ou le TFE, nous espérons observer le produit d'addition 1,4 qui pourrait être privilégié par rapport à la réaction d'addition en position 1,2. Dans ces conditions, le composé **111** a été isolé avec un faible rendement de 12%. Un mécanisme plausible de formation du **111** serait l'addition des éventuelles traces de H₂O dans le milieu réactionnel sur l'intermédiaire vinyl spiro-oxocarbénium pour former l'intermédiaire hémiacétal **110** peu stable, qui subirait une ouverture de cycle pour donner finalement le composé **111**. D'autres nucléophiles plus affins à des réactions d'addition 1,4 du fait de leurs caractères mous, le vinyltriméthylsilane et le TMSCN (voies e et f) ont été testés. Une fois de plus le composé **111** a été isolé, ces derniers résultats nous ont permis de conclure que la position 1,4 du cation vinyl spiro-oxocarbénium n'est pas suffisamment compétitive vis-à-vis de la position 1,2. Avec le TMSCN, il a été nécessaire d'utiliser PIFA (voie f). En effet, en présence du TMSCN le composé **112** se forme dans un premier temps. Les sous-produits générés par

PIDA (CH_3COOH) ne sont pas suffisamment acide pour déprotéger le TMS du phénol. Avec le PIFA, contrairement à nos attentes, aucun produit d'addition 1,4 sur l'intermédiaire vinyl spiro-oxocabénium **106** n'a été observé et seul le produit **111** est obtenu.

III) Synthèse d'un analogue hybride par réaction tandem d'oxydation phénolique utilisant la génération *in situ* de réactif à l'iode hypervalent (III) en quantité catalytique

Afin de diversifier la structure vers de nouveaux analogues des aculéatines, nous nous sommes aussi intéressés à la synthèse d'un analogue hybride **113**, présentant deux fonctions pharmacophoriques : une fonction spirocyclohexa-2,5-diénone dérivée des aculéatines et une fonction 2*H*-pyran-3(6*H*)-one dérivée d'un autre produit naturel EBC-23 connu pour ces propriétés anticancéreuses^[103] (Fig III.2).

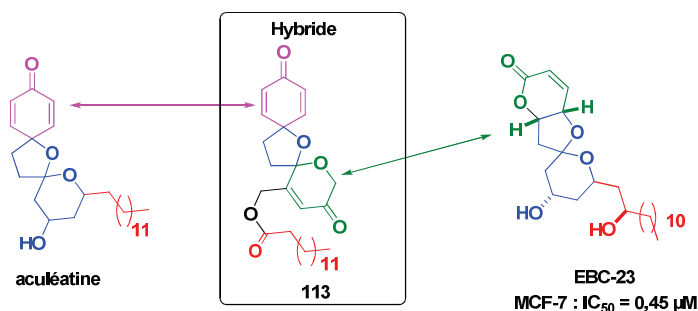


Fig III.2 : nouvel analogue hybride des aculéatines

Ce nouvel analogue hybride pourrait être obtenu en utilisant une approche de réactions tandem d'oxydation phénolique initiée par un réactif à l'iode hypervalent (III) (Schéma III.18). A partir d'un intermédiaire clé **114**, une activation simultanée des deux réactions d'oxydation phénolique et d'oxydation de la fonction furanyl-2-méthanol conduirait au produit désiré.

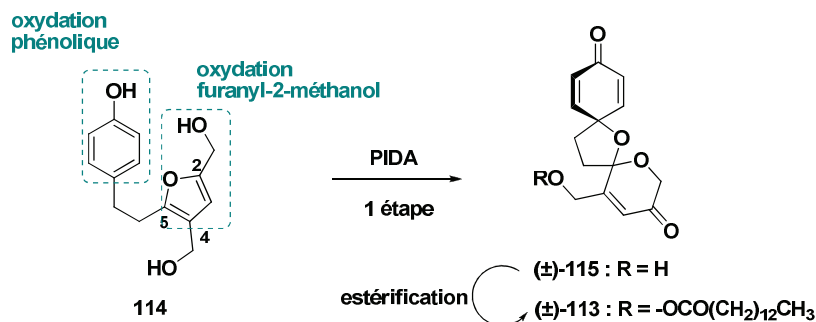


Schéma III.18 : stratégie de synthèse en tandem de l'hybride **113**

La synthèse de l'intermédiaire clé **114** a été réalisée en 5 étapes à partir du produit commercial **116** (Schéma III.19). Nous avons d'abord converti la fonction acide carboxylique de **116** en chlorure d'acyle, qui a ensuite réagi avec l'acide de Meldrum **118** pour donner le composé **119**. Le β -cétoester **120** correspondant a été obtenu par chauffage au reflux de **119** dans l'éthanol. La réaction de Garcia-Gonzalez entre le dimère de DL-glycéraldéhyde **121** et le β -cétoester **120** en présence du catalyseur $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ a permis d'obtenir le composé **122**. Enfin, une réaction de réduction avec LiAlH_4 de la fonction ester conduit à l'intermédiaire clé **114**.

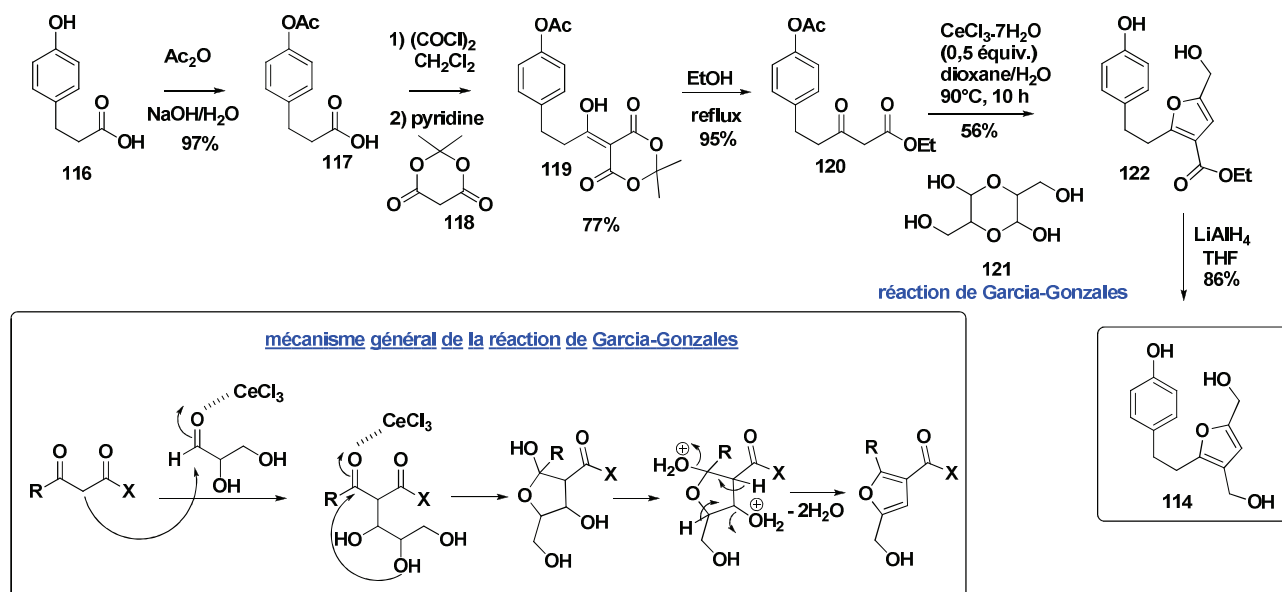


Schéma III.19 : synthèse de l'intermédiaire clé **114**

Lorsque l'intermédiaire clé **114** a été mis en présence d'une quantité stœchiométrique de PIDA ou PIFA, aucune trace du produit désiré n'a été observée (Schéma III.20). En effet, l'oxydation simultanée des fonctions phénolique et furanyl-2-méthanol passe par différents intermédiaires réactionnels très réactifs (Fig III.3) qui peuvent interférer pour donner des produits indésirables.

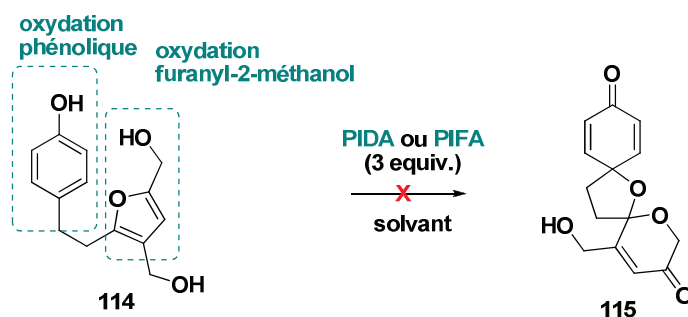


Schéma III.20 : réaction tandem avec une quantité stœchiométrique de PIDA et PIFA

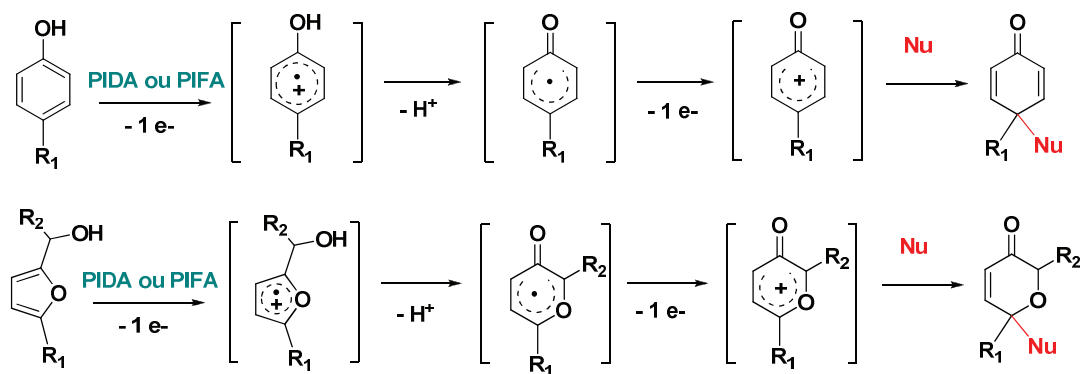
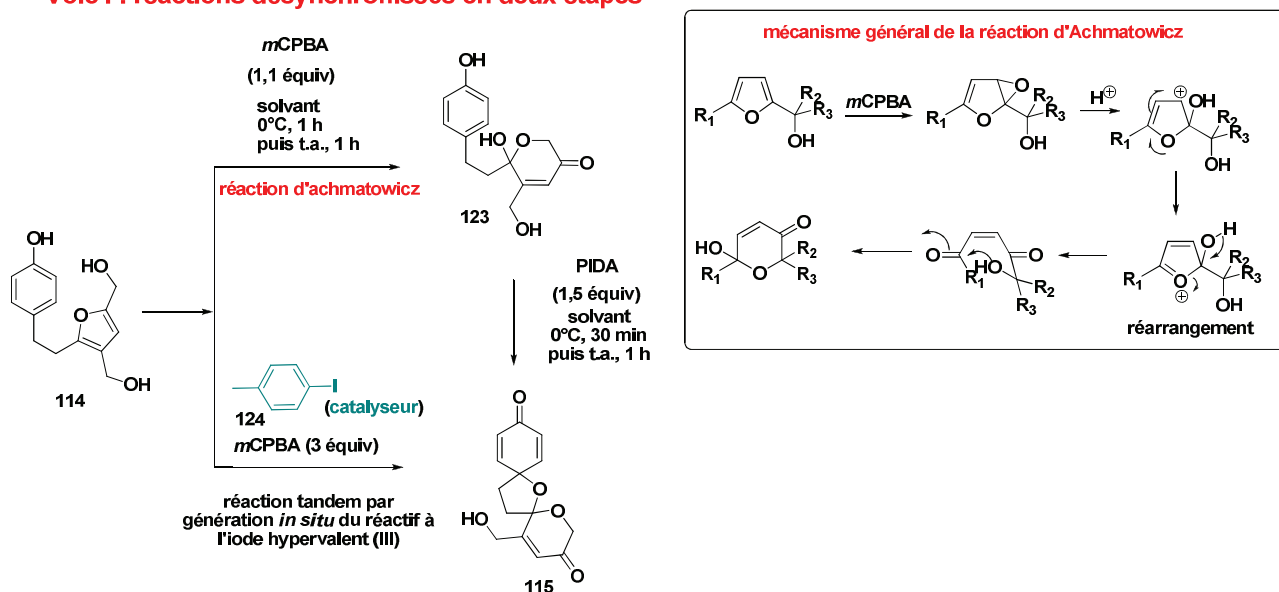


Fig III.3 : différents intermédiaires réactionnels produits au cours des réactions d'oxydations

Afin d'éviter des interférences entre les différents intermédiaires réactionnels, une des solutions a été de désynchroniser les deux réactions d'oxydation. Pour cela, deux méthodes ont été développées durant les travaux de cette thèse (Schéma III.21).

Voie I : réactions désynchronisées en deux étapes



Voie II : réactions désynchronisées en une étape

Schéma III.21 : réactions tandem désynchronisées

1) Réactions désynchronisées en deux étapes

Pour oxyder sélectivement la fonction furanyl-2-méthanol sans toucher à la fonction phénol, le *m*CPBA est un oxydant de choix qui par la réaction d'Achmatowicz conduit à la formation du composé **123** (Tableau III.4, entrées 1, 2, 3). En présence d'un réactif à l'iode hypervalent (III), le

composé **123** génère un intermédiaire phénoxénium qui subit l'addition intramoléculaire d'un hydroxyle pour donner le composé **115** constituant le squelette du produit final attendu. La deuxième étape de cette réaction dépend beaucoup de la nature du solvant (entrées 4-9) et le HFIP semble jouer un rôle déterminant dans la réussite de la réaction. En effet, ces types de solvants fluorés ont écrit comme étant des stabilisateurs des espèces radicales cations, formées lors de la réaction d'oxydation phénolique. La présence du HFIP indispensable à la réussite de cette réaction pourrait s'expliquer éventuellement par le piégeage de l'intermédiaire radical cation au lieu du phénoxénium par le nucléophile (hydroxyle hémiacétal **123**). C'est uniquement en faisant la réaction dans un volume équivalent de CH₂Cl₂ et HFIP (entrée 8) que le composé **115** a pu être obtenu. Ces conditions de solvant ont également permis d'obtenir le composé **123** (entrée 3) avec le meilleur rendement (74%). Par la suite, nous avons retenu le mélange HFIP/CH₂Cl₂ (1/1) pour tenter d'obtenir le composé **115** en seulement une étape à partir de **114** (Voie II, Schéma III.21).

Entrée	réactif	condition pour obtenir 123	rendement de 123 (%)	condition pour obtenir 115	rendement de 115 (%)
1	<i>m</i> CPBA	acétone	43		
2	<i>m</i> CPBA	DCM/CH ₃ CN (3/1)	72		
3	<i>m</i> CPBA	DCM/HFIP (1/1)	74%		
4	PIDA			DCM	< 1
5	PIDA			DCM/CH ₃ CN (3/1)	< 1
6	PIDA			THF	< 1
7	PIDA			acétone	4
8	PIDA			DCM/HFIP (1/1)	74%
9	PIFA			DCM/HFIP (1/1)	2

Tableau III.4 : résultats de la synthèse désynchronisée en 2 étapes

2) Réactions désynchronisées en une étape

Afin d'obtenir le composé **115** directement à partir de **114**, nous nous sommes inspirés des travaux de d'Ochiai^[104] et de Kita^[105] qui en 2005 ont rapporté une nouvelle approche de génération *in situ* de réactif à l'iode hypervalent (III) (Schéma III.22).

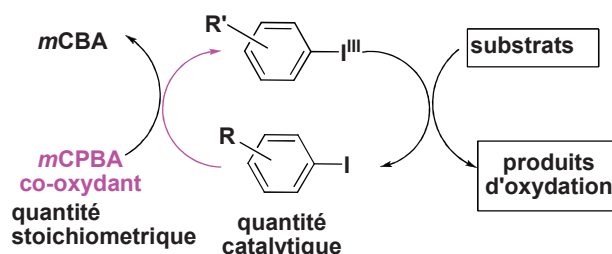


Schéma III.22 : génération *in situ* de réactifs à l'iode hypervalent (III)

Afin d'introduire facilement une fonction oxygénée sur le carbone en position α d'un groupement carbonyle, l'équipe d'Ochia^[104] a utilisé la méthode de génération *in situ* de réactif à l'iode hypervalent (III) à partir du 4-iodobenzène en quantité catalytique (0,1 équiv), en présence de mCPBA comme co-oxydant en quantité stœchiométrique (1,4 équiv) (Schéma III.23). Pour cette synthèse, les auteurs insistent également sur la nécessité d'un milieu acide ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, 3 équiv) qui a beaucoup d'influence sur la cinétique de la réaction d'oxydation de l'iodobenzène en diacyloxyiodobenzène. L'utilisation de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ semble aussi essentielle pour l'énolisation des cétones, seule la forme énolique est capable de réagir avec le réactif à l'iode hypervalent (III) généré *in situ*.

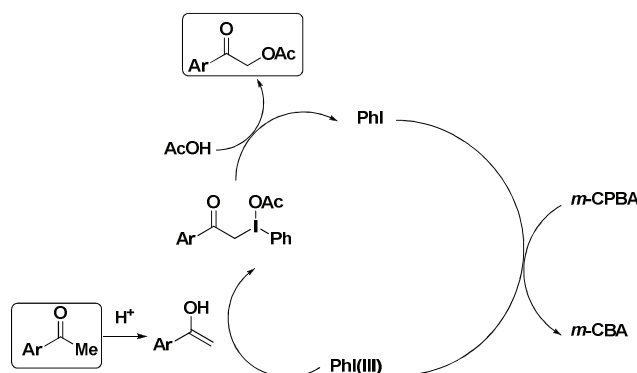


Schéma III.23 : génération *in situ* de réactif à l'iode hypervalent dans la réaction d'Ochia

Afin de mettre en place une réaction de spirolactonisation, l'équipe de Kita a utilisé différents composés iodo-arènes comme le 4-iodotoluène ou le 4-iodobenzène, qui ont été mis en présence d'une quantité stœchiométrique de mCPBA jouant le rôle de co-oxydant afin de générer *in situ* le réactif à l'iode hypervalent correspondant (Schéma III.24). La présence d'un additif acide de Lewis ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) ou de Brönsted (TFA) semble importante pour obtenir un bon rendement et diminuer

considérablement le temps de la réaction. Kita *et al.*^[105] ont aussi reporté un autre exemple de formation de liaison C-C par génération *in situ* de réactif à l'iode hypervalent (III) (Schéma III.24).

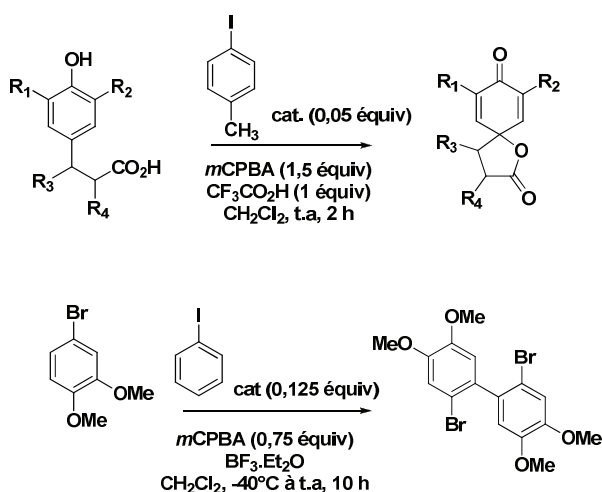


Schéma III.24 : génération *in situ* de réactif à l'iode hypervalent (III) par Kita

Une version énantiosélective de la réaction de spirolactonisation par génération *in situ* de réactif à l'iode hypervalent (III) a été rapportée par l'équipe de Kita^[106] en 2009 (Schéma III.25) et repris par Ishihara *et al.*^[107] A partir des composés iodo-aryles chiraux, ils génèrent dans le milieu réactionnel des réactifs à l'iode hypervalent (III) chiraux qui permettent d'obtenir les spirolactones de façon énantiosélective.

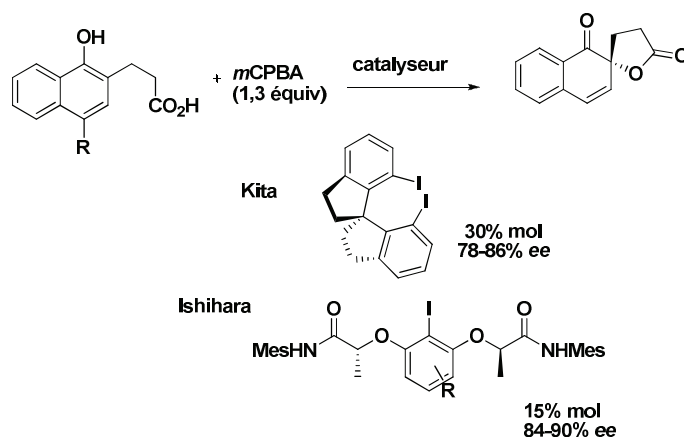


Schéma III.25 : génération *in situ* de réactifs à l'iode hypervalent (III) chiraux

Afin de désynchroniser les deux réactions d'oxydation du furanyl-2-méthanol et du phénol en seulement une étape, nous avons utilisé cette approche de génération *in situ* de réactif à l'iode hypervalent (III) (Schéma III.26).

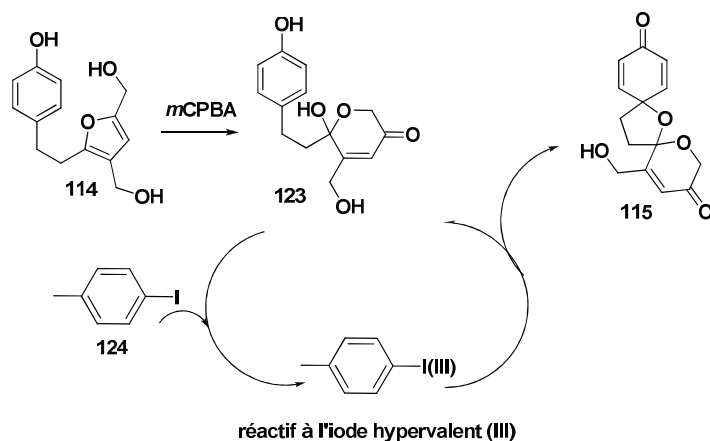


Schéma III.26 : synthèse désynchronisée de l'hybride en 'un pot' via la génération *in situ* de réactif à l'iode hypervalent

Le réactif *m*CPBA qui nous a permis d'oxyder sélectivement la fonction furanyl-2-méthanol du **114** pour donner le composé **123**, servira également de co-oxydant pour convertir le 4-iodotoluène (I) **124** en iode hypervalent (III) qui oxydera le phénol du composé **123** pour donner le produit désiré **115** (Tableau III.5) en « un pot séquentiel » (entrées 1-4), ou en « un pot » (entrée 5).

entrée	solvant	conditions réactionnelles	rendement de 115 (%)
1	CH ₂ Cl ₂ /HFIP (1/1)	<i>m</i> CPBA, 1 h, 0°C + 1 h, t.a, puis addition du cat. à t.a. + TFA (1 equiv.), puis 15 min à t.a.	<1
2	CH ₂ Cl ₂ /HFIP (1/1)	<i>m</i> CPBA, 1 h, 0°C + 1 h, t.a, puis addition du cat. à t.a., puis 15 min à t.a.	22
3	acétone	<i>m</i> CPBA, 1 h, 0°C + 1 h, t.a, puis addition du cat. à t.a., puis 48 h à t.a.	7
4	acétone/H ₂ O (6/1)	<i>m</i> CPBA, 1 h, 0°C + 1 h, t.a, puis addition du cat. à t.a., puis 48 h à t.a.	<1
5	CH ₂ Cl ₂ /HFIP (1/1)	<i>m</i> CPBA + cat. 1 h à t.a.	25%

Tableau III.5 : résultats de la synthèse désynchronisée en 'un pot'

D'après les travaux de Kita,^[105] l'ajout d'un additif acide (TFA) améliore le rendement de la réaction. Les travaux d'Ochia^[104] montre également la nécessité d'avoir un acide de Lewis dans le milieu. Dans notre cas, l'ajout du TFA dans le milieu réactionnel a conduit à la dégradation du composé **114** (entrée 1). Le faible rendement de produits purs obtenus s'explique aussi par des difficultés de purification dues à la présence en quantité importante de *m*CPBA. Une réaction d'estérification a ensuite permis d'obtenir l'analogue hybride à partir de **113** (Schéma III.27).

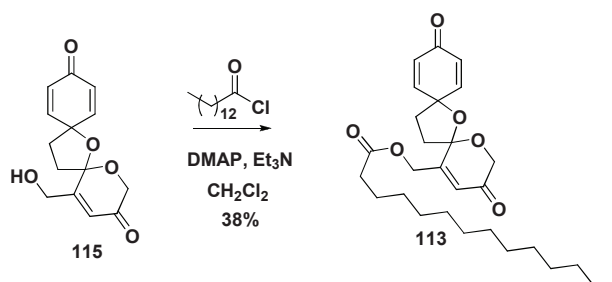


Schéma III.27 : synthèse de l'analogue hybride

IV) Synthèse de nouveaux analogues *via* la formation du cation spiro-époxonium

En extrapolant nos travaux sur le piégeage de fonction cétone par le phénoxénium et pour accéder à de nouveaux composés spirocyclohexa-2,5-diénone, nous nous sommes ensuite intéressés à la capacité du phénoxénium à piéger cette fois-ci une fonction époxyde pour générer un intermédiaire spiro-époxonium (Schéma III.28).

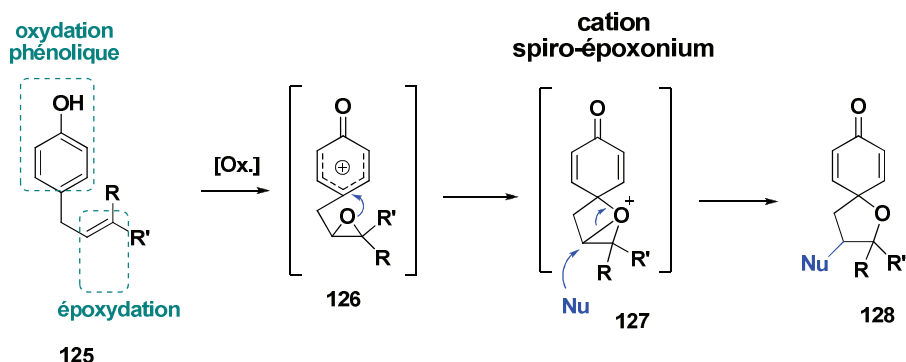


Schéma III.28 : synthèse de nouveaux composés spiraniques *via* le cation spiro-époxonium

Cette synthèse pourrait être réalisée en utilisant une stratégie de réactions tandem d'oxydation phénolique et d'époxydation d'une fonction alcène. L'intermédiaire phénoxénium **126**, généré à partir

du phénol, sera ensuite piégé par l'époxyde pour donner l'intermédiaire spiro-époxonium **127**. Ce dernier pourra à son tour subir l'addition d'autres nucléophiles et conduire aux composés spiraniques finaux **128**.

Deux approches ont été développées afin d'obtenir le composé spiranique final. La première approche (Schéma III.29, voie I) consiste à former d'abord l'époxyde **129** en présence de *m*CPBA. Ensuite en présence d'une quantité stœchiométrique de réactif à l'iode hypervalent, l'intermédiaire phénoxénium **126** (Schéma III.28) sera généré et pourra être piégé par la fonction époxyde pour conduire au produit final **128**. Dans la deuxième approche en 'un pot', le réactif à l'iode hypervalent (III) qui permet d'obtenir le phénoxénium **126** sera cette fois-ci généré *in situ* en présence d'une quantité stœchiométrique de *m*CPBA et d'une quantité catalytique de 4-iodotoluène **124** (Schéma III.29, voie II), conformément à la méthode en 'un pot' que nous avons précédemment développée pour la synthèse de l'analogue hybride **113** (voir Schéma III.26).

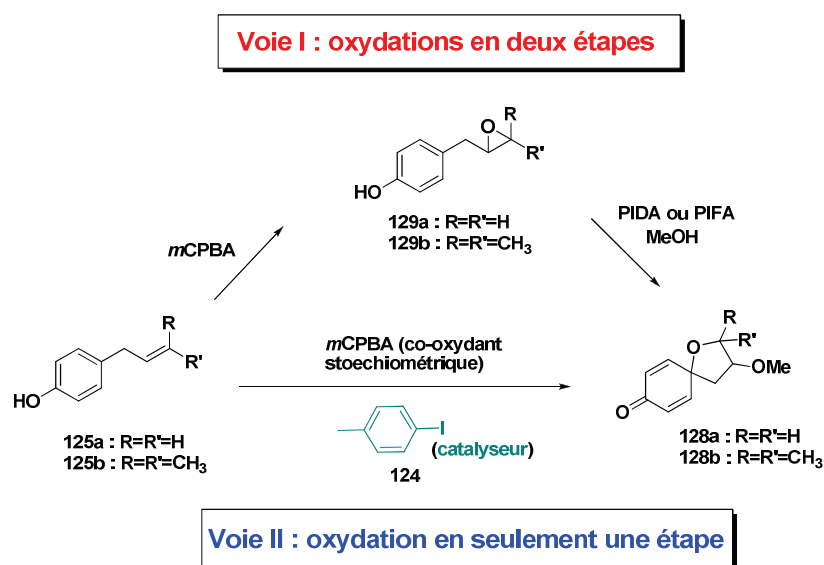


Schéma III.29 : réactions d'époxydation et d'oxydation phénolique

↳ 1) Réactions d'oxydation en deux étapes

Le composé spiranique **128a** pourrait effectivement être obtenu en deux étapes à partir de l'alcène **125a**. L'époxyde **129a** (Schéma III.30) est obtenu avec des rendements raisonnables. La deuxième étape de cette réaction est très dépendante de la nature du solvant, du réactif oxydant (PIDA ou PIFA)

et aussi de la température. Plusieurs conditions ont été testées et les résultats obtenus ont été rassemblés dans le tableau III.6.

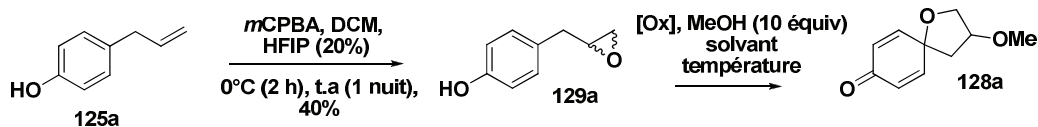


Schéma III.30 : réaction d'époxydation et d'oxydation phénolique en deux étapes

entrée	oxydants		solvant			additif	température				Rdt de 128a (%)
	PIDA	PIFA	DCM	MeOH	THF		t.a	0°C	-40°C	-78°C	
1	x		x				x				25
2	x		x			x	x				22
3	x		x					x			32
4		x	x					x			18
5	x			x				x			41
6	x				x			x			0
7		x			x			x			25
8	x		x							x	0
9	x			x					x		70
10	x		x						x		63

Tableaux III.6 : mise au point des réactions d'oxydations en deux étapes

Le premier essai d'oxydation (Tableau III.6, entrée 1) n'offrant qu'un rendement de 25%, d'autres paramètres réactionnels (réactif oxydant, solvant, température) ont été modifiés afin d'optimiser le rendement. Dans un premier temps, un essai en ajoutant 20% de HFIP (entrée 2) a été réalisé, mais le rendement de la réaction n'en fut pas amélioré. Les résultats obtenus pour les entrées 3 et 4 mettent en évidence que le PIDA est le réactif le plus approprié à la mise au point de cette réaction. L'effet de la température semble jouer un rôle important dans cette réaction. En effet, les rendements ont été améliorés en travaillant à 0°C (entrée 3) et davantage à -40°C (entrée 10). A -78°C (entrée 8), la

réaction d'oxydation ne s'est pas produite, ce qui nous a permis de définir une limite de température (-40°C) pour cette réaction. Le meilleur rendement a été obtenu en faisant la réaction dans du MeOH (100%). L'utilisation du THF a apporté des résultats différents suivant le réactif à base d'iode hypervalent (III). Avec le PIDA comme oxydant (entrée 6), le produit désiré n'a pas été obtenu, sans doute du fait que le PIDA ne soit pas soluble dans ce solvant, alors que l'utilisation du PIFA (entrée 7) a permis d'obtenir le produit désiré avec un faible rendement de 25%.

↳ 2) Réactions d'oxydation en une étape

L'approche en 'un pot' *via* la génération *in situ* du réactif à l'iode hypervalent (III) (Schéma III.31) a également permis d'obtenir les composés **128a** et **128b** spiraniques en seulement une étape (Tableau III.7).

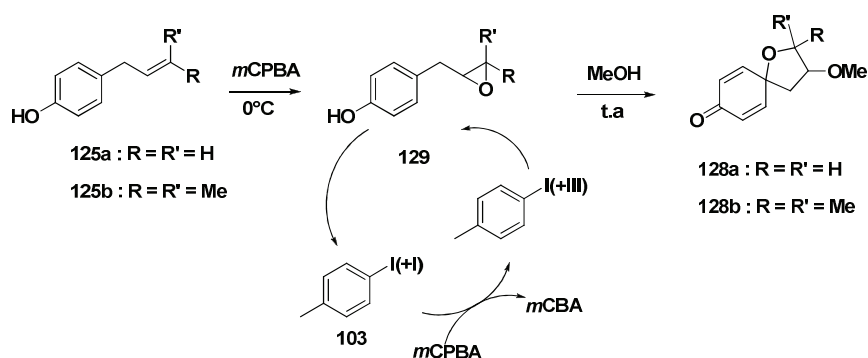


Schéma III.31 : réaction d'oxydation en 'un pot' *via* la génération *in situ* de réactif à l'iode hypervalent (III)

entrée	produits	substituant		T($^{\circ}\text{C}$)	temps (h)		Rdt (%)
		R	R'		époxydation	oxydation phénolique	
1	128a	H	H	t.a	16	1	20
2	128b	CH ₃	CH ₃	t.a	4	0,5	25

Tableau III.7 : réaction en 'un pot' d'époxydation et d'oxydation phénolique

V) Activités biologiques et études de relations structure-activité de nouveaux analogues des aculéatines

Les propriétés biologiques antipaludiques des différents composés analogues naturels et synthétiques des aculéatines ont été évaluées sur la souche 3D7 de *P. falciparum* (Fig III.4).

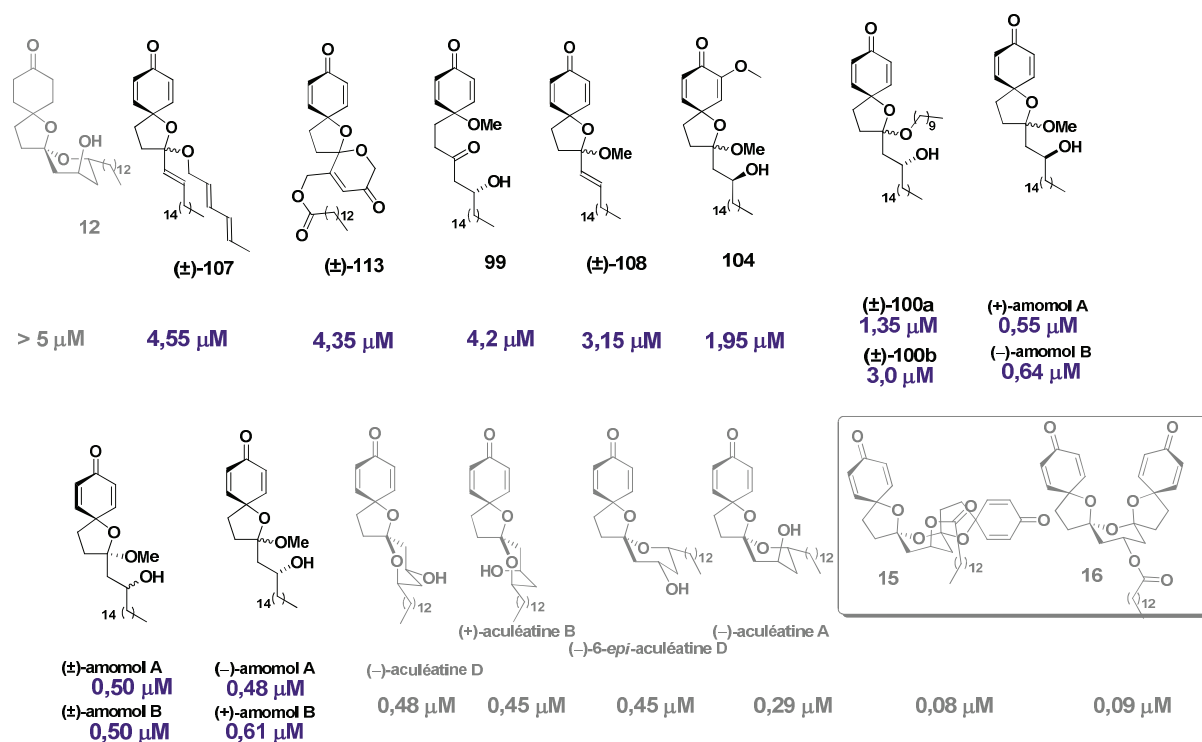
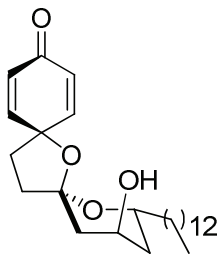


Fig III.4 : activités antipaludiques des nouveaux analogues des aculéatines

Molécule de référence	modifications	produits	activité antipaludique
 (-)-aculéatine A $0,29 \mu\text{M}$	réduction de la fonction cyclohex-2,5-diénone	12	perte de l'activité
	suppression du 3 ^{ème} cycle	les amomols	conservation de l'activité
	suppression du cycle à 5 spiranique	99	diminution de l'activité
	substitution sur le cycle	104	diminution de l'activité

	double pharmacophore	15, 16	amélioration de l'activité
	suppression de la chaîne grasse	13, 14 (voir Fig II.4)	effet cytotoxique généralisé (thèse Peuchmaur)

Tableau III.8 : études de relations structures-activités

Par rapport aux produits naturels les amomols, toutes les modifications apportées sur le cycle à 6 (composé **104**) ou l'ajout d'une deuxième chaîne aliphatique (composés **100**) ont conduit à une diminution de l'activité antipaludique. Les amomols A et B énantiopurs se sont révélés aussi efficaces que les amomols racémiques (de l'ordre 0,5 μM). Ce résultat prouve que les configurations ont peu d'influence sur l'activité antipaludique. L'activité antipaludique des amomols, avoisinant celle des aculéatines, montre que le 3^{ème} cycle spiranique des aculéatines n'est pas indispensable à l'activité antiparasitaire. En revanche, le deuxième cycle à 5 spiranique joue un rôle important dans l'activité antipaludique observée car sa suppression entraîne une diminution de l'activité (composé **99**). De toutes ces informations, nous déduisons que la fonction pharmacophorique indispensable à l'activité antipaludique est la fonction spiro-cyclohexa-2,5-diénone. Les meilleurs composés synthétisés au laboratoire restent les composés **15** et **16** avec un double pharmacophore, qui sont actifs de l'ordre du nanomolaire avec des SI supérieures à 100. Du fait de la présence de la fonction ester hydrolysable *in vivo*, les composés **15** et **16** présentent cependant l'inconvénient d'être cytotoxique.

VI) Des outils pour la recherche d'une cible biologique

↳ 1) Cibles et mode d'action possibles des aculéatines

Les activités biologiques assez diverses de ces molécules (antipaludiques, anticancéreuses et antibactériennes) semblent indiquer qu'il pourrait y avoir plusieurs cibles potentielles des aculéatines et analogues. La (les) cible(s) biologique(s) des aculéatines demeure(nt) encore inconnue(s). Elles représentent une nouvelle classe de pharmacophores antipaludiques caractérisés par la présence d'une fonction spirocyclohexa-2,5-diénone. Le motif cyclohexa-2,5-diénone se retrouve dans plusieurs produits naturels biologiquement actifs, comme la wasabidiénone A isolée en 1984 par Soga *et al.*^[108] (Fig III.5), l'herbimicine A,^[109] ou la dumhirone A isolée par une équipe chinoise.^[110] Ce type de motif plus ou moins modifié est aussi rencontré dans des produits comme la duocarmycine,^[111] un candidat

médicament qui a été jusqu'à la phase clinique de développement. En 2004, un brevet^[112] a été déposé sur une classe de composés cyclohexa-2,5-diénone dérivés d'une algue rouge en vue de leur utilisation comme agent thérapeutique.

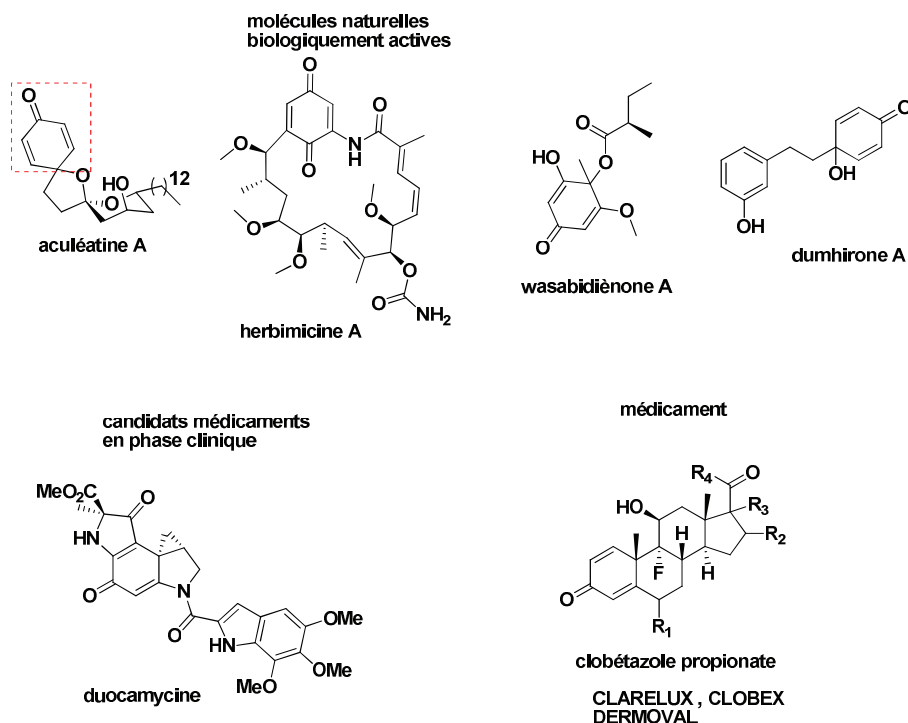


Fig III.5 : produits d'origine naturelle avec le motif cyclohexa-2,5-diénone

La présence de la fonction cyclohexa-2,5-diénone fait de ces molécules des accepteurs de Michael potentiels. Les accepteurs de Michael dans la conception de médicament est un sujet très controversé. Dans le cas d'accepteurs de Michael non sélectifs, ces molécules peuvent se révéler cytotoxique.^[113] Ce type d'accepteurs entraîne généralement la formation de liaisons covalentes avec des nucléophiles comme les résidus cystéine présents sur de nombreuses protéines, pouvant entraîner des dommages cellulaires.^[114] Pour des raisons de sécurité, des médicaments covalents sont rarement pris en compte dans la conception de nouveaux médicaments. Cependant, il serait nécessaire de réévaluer cette classe importante de médicaments dans les projets de recherche. Notamment, face au défi actuel qui est le développement de composés accepteurs de Michael sélectifs.^[115] Plusieurs programmes de recherche récents exploitent cette approche, à travers la conception d'inhibiteurs agissant de façon covalente et réversible avec la cible. Les avantages potentiels de cette stratégie sont essentiellement une affinité forte et prolongée avec la cible biologique.^[116] D'autre part, plus de 39 médicaments^[115] covalents ont déjà été approuvés par la US Food and Drugs Administration (FDA). L'aspirine, la pénicilline ou l'oméprazole agissent de façon covalente et irréversible avec leur cible.

2) Méthodes d'études du caractère accepteurs de Michael des composés α,β -insaturés

L'équipe de Noyori^[117] avait rapporté en 1997 des études RMN sur les accepteurs de Michael pour mieux comprendre leur mode d'action avec les fonctions thiols. Leur stratégie mettait en présence différents analogues de la prostaglandine avec des composés thiols tels que le glutathion, la cystéine ou encore le butanethiol dans un mélange 1/1 de méthanol deutérié (CD_3OD) et d'une solution à 0,1 M de tampon phosphate deutérié à pH 7,4. Par analyse RMN, ils ont observé la diminution des signaux caractéristiques des protons vinyliques correspondant à l'addition des nucléophiles thiols sur la fonction diénone pour former le composé **131** (Schéma III.32). L'ensemble de ces études les a conduit à émettre une hypothèse, à savoir que les analogues de la prostaglandine, accepteurs de Michael, agissent de façon covalente et réversible avec plusieurs composés thiols dans des conditions proches du milieu physiologique.

L'acide 2-cyano-3,12-dioxooléana-1,9(11)-dién-28-oïque (CDDO) est un composé anti-inflammatoire présentant une fonction accepteur de Michael très activée du fait de la présence de la fonction nitrile électroattracteur (Schéma III.32). En 2005, au cours de leurs études, Couch *et al.*^[118] ont identifié le CDDO comme une molécule qui réagit de façon covalente et réversible avec le glutathion, et mieux encore avec le 1,4-dithiothréitol (DTT). Lorsqu'ils ont mis le DTT en présence de la CDDO dans du DMSO, ils observent par UV la formation du composé **132** correspondant au produit d'addition de Michael du DTT sur l'énone (Schéma III.32).

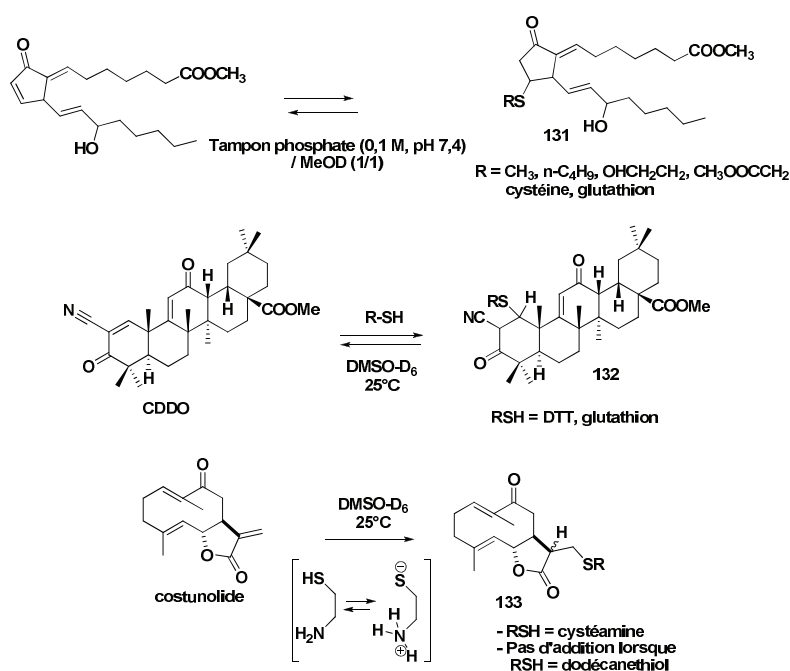
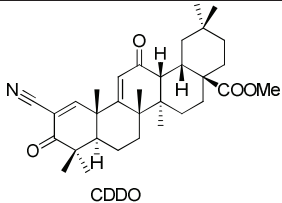
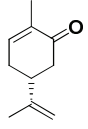
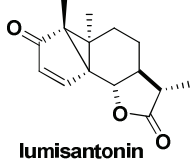
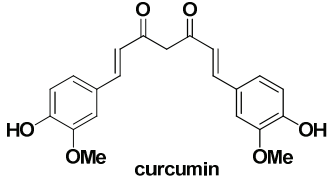
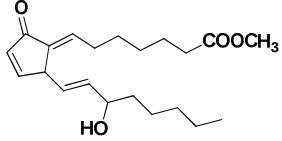
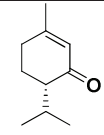
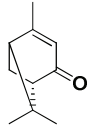
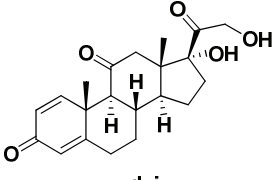
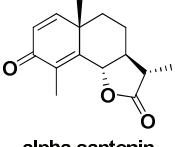


Schéma III.32 : réactivité des accepteurs de Michael avec des nucléophiles thiols

Tout récemment l'équipe d'Appendino^[119] a réalisé des études similaires pour mettre en évidence le caractère accepteur de Michael de la costunolide (Schéma III.32). Lorsqu'ils ont mis la costunolide en présence de 1-dodécane-thiol dans différents solvants, aucune réaction n'a été observée. C'est en mettant la cystéamine, un nucléophile thiol activé à cause du phénomène de prototropie avec la fonction amine qu'ils ont observé la réaction d'addition de Michael conduisant au composé **133**. D'autres composés accepteurs de Michael se sont révélés inactifs en présence de la cystéamine dans les mêmes conditions. Ces résultats confirment que les composés possédant une fonction accepteur de Michael ne présentent pas la même réactivité vis-à-vis des nucléophiles thiols et qu'une certaine sélectivité peut être obtenue. Un résumé du pouvoir accepteur de Michael de quelques composés biologiquement actifs est présenté dans le tableau III.9.

accepteur de Michael		Nu testés	solvants
 CDDO	thiol-accepteur, liaison covalente et réversible	DTT et glutathion	DMSO ^a
 R-carvone	thiol-accepteur liaison covalente	cystéamine	DMSO ^a
 lumisantonin	thiol accepteur liaison covalente	cystéamine	DMSO ^a
 curcumin	thiol accepteur liaison covalente	cystéamine	DMSO ^a
 analogue de la prostaglandine	thiol accepteur liaison covalente et réversible	la fonction double accepteur de Michael augmente l'affinité avec les thiols et la réversibilité	MeOD/tampon phosphate deutérioré, (pH 7,4 ; 0,1 M) ^b
 (+)-piperitone	non thiol accepteur	cystéamine	DMSO ^a

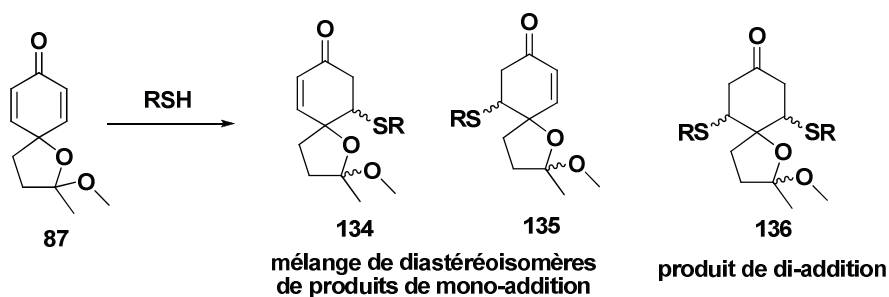
 (+)-verbenone	non thiol accepteur	cystéamine	DMSO ^a
 prednisone	non thiol accepteur	cystéamine	DMSO ^a
 alpha-santonin	non thiol accepteur	cystéamine	DMSO ^a

a : condition Appendino

b : condition Noyori

Tableau III.9 : pouvoir accepteur de Michael de quelques composés naturels ou biologiquement actifs

Afin d'évaluer le pouvoir accepteur de Michael des aculéatines, plusieurs nucléophiles thiols et solvants ont été testés sur un modèle simplifié des aculéatines (Schéma III.33).

Schéma III.33 : réactivité des aculéatines en présence des nucléophiles thiols

entrée	nucléophiles thiols	milieu réactionnel	réaction d'addition 1,4	commentaires
1	cystéamine (1 à 2 équiv)	DMSO	addition	réaction très rapide
2	DTT (1,5 équiv)	DMSO	aucune addition	après 48 h
3	dodécane-thiol (1 à 2	DMSO	aucune	après 48 h

	équivalent)		addition	
4	cystéamine (1 équivalent)	tampon phosphate deutérioré/ MeOD (1/1)	mono- addition	formation de sous produits
5	DTT	tampon phosphate deutérioré/ MeOD (1/1)	aucune addition	après 48 h
6	dodécane-thiol (1 à 2 équivalent)	tampon phosphate deutérioré/ MeOD (1/1)	aucune addition	après 48 h
7	<i>N</i> -diméthyl-cystéamine (1 équivalent)	tampon phosphate deutérioré/ MeOD (1/1)	mono- addition suivie de di- addition avec 2 équivalent	Seul produit formé déterminé par RMN

Tableau III.10 : réactivité des aculéatines en présence des nucléophiles thiols

Notre choix s'est porté dans un premier temps sur la cystéamine dans les conditions décrites par Appendino,^[119] (Tableau III.10, entrée 1). En présence de la cystéamine dans le DMSO, nous avons observé une disparition totale des signaux de la fonction diénone, en ajoutant progressivement 0,5 à 2 équivalents de cystéamine. Dans les mêmes conditions, d'autres nucléophiles tels que le DTT et le dodécane-thiol (entrées 2, 3) se sont révélés inactifs. Ces premières études nous ont permis de comprendre que les aculéatines sont potentiellement des accepteurs de Michael sélectifs. Cette sélectivité dépendrait d'une part du caractère accepteur de Michael des aculéatines, et d'autre part, de la nucléophilie (basicité) des dérivés thiols (Tableau III.11).

Ensuite, nous nous sommes inspirés des travaux de Noyori^[117] afin d'évaluer le pouvoir accepteur de Michael des aculéatines dans des conditions proches des conditions physiologiques (tampon phosphate à pH 7,4). Pour mieux suivre l'évolution de la réaction d'addition, seulement 1 équivalent de cystéamine a été ajouté au modèle aculéatine **87** (Tableau III.10, entrée 4) dans un mélange (1/1) d'une solution à 0,1 M de tampon phosphate à pH 7,4 et de MeOD. Une fois de plus, nous observons la disparition progressive des signaux de la fonction diénone avec le temps (Fig III.6, b, c). La

multiplicité des signaux apparus prouve qu'il se forme d'abord des diastéréoisomères du produit de mono-addition de Michael (Schéma III.33). Cependant, avec la cystéamine, l'addition 1,4 n'est pas la seule réaction que subit le modèle aculéatine **87**. En effet, nous observons également l'apparition d'un signal à 7,1 ppm, qui n'a pas pu être identifié (Fig III.6, b, c). Avec les deux pôles nucléophiles de la cystéamine (fonctions thiol et amine secondaire), la formation de sous produits indésirables n'a pas été négligeable lors des tests.

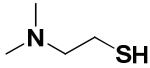
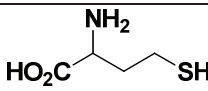
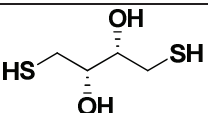
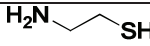

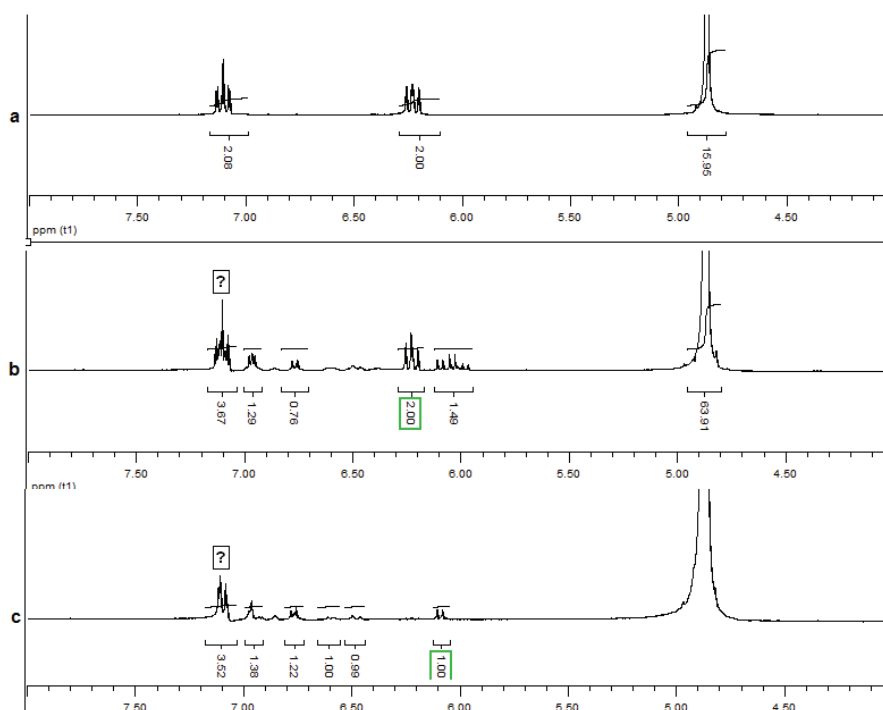
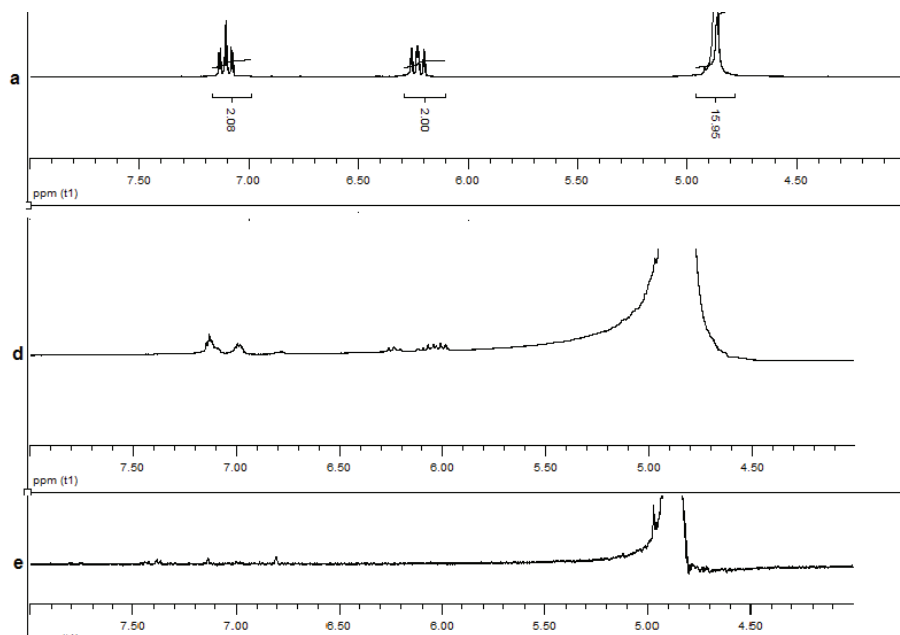
nucléophiles thiol	pKa de la fonction thiol	nucléophiles thiol	pKa de la fonction thiol
 N-diméthylcystéamine	7,95	glutathione	8,75
 cystéine	8,3	 DTT	9,2
 cystéamine	8,6	 mercaptoéthanol	9,5

Tableau III.11 : pKa de quelques nucléophiles thiols



- a) **87** dans du tampon phosphate 0.1 M pH 7.4/MeOD (1/1)
 b) 15 min après l'ajout de 1 équiv de cystéamine
 c) 1 nuit après l'ajout de 1 équiv de cystéamine

Fig III.6 : évolution de la réaction d'addition de Michael sur **87** avec la cystéamine



d) 15 min après l'ajout de 1 équiv de *N*-diméthyl-cystéamine

e) 15 min après l'ajout de 2 équiv de *N*-méthyl-cystéamine

Fig III.7 : évolution de la réaction d'addition de Michael sur **87** avec la *N*-diméthylcystéamine

Afin de diminuer le risque de formation de sous-produits, notre choix s'est ensuite porté sur l'hydrochlorure de 2-diméthylaminoéthanethiol ou *N*-diméthylcystéamine, qui ne présente que le groupement thiol comme groupe nucléophile. L'addition de 1 équivalent de ce dernier dans les conditions de Noyori (Tableau III.10, entrée 7) conduit également à la disparition progressive du réactif de départ pour donner un mélange de diastéréoisomères du produits de mono-addition (Fig III.7). Cette fois-ci, peu de sous-produit se sont formés.

Afin de compléter la réaction, nous avons ajouté 2 équivalents de *N*-méthylcystéamine. Une disparition totale des signaux de la fonction diénone a été observée pour former le produit **136** de double addition de Michael (Schéma III.30) (confirmé par spectrométrie de masse).

Le caractère accepteur de Michael sélectif des aculéatines se confirme encore dans les conditions de Noyori, puisque le dodécaneethiol ainsi que le DTT n'ont fourni aucun produit d'addition (Tableau III.10, entrées 5 et 6).

↳ 3) Cibles biologiques potentielles

Du fait de leur caractère accepteur de Michael, la thiorédoxine réductase (TRX/R) pourrait être une des cibles potentielles des aculéatines. En effet, *P. falciparum* possède un système thiorédoxine réductase fonctionnel qui joue un rôle important dans la régulation de l'équilibre rédox cellulaire. La

détoxification des espèces réactives de l'oxygène (radicaux libres) et des alkyles hydroperoxydes est un mécanisme particulièrement important pour les organismes parasites comme *P. falciparum* qui doivent se charger de détoxifier non seulement les radicaux libres de leur propre métabolisme, mais aussi ceux produits par le système immunitaire de l'hôte pendant la phase érythrocytaire de l'infection. En plus des enzymes telles que la catalase et la glutathion peroxydase, le système thiorédoxine^[120] constitué de la réductase NADPH dépendante, de la disulfure oxydoréductase, de la thiorédoxine réductase, et de petites protéines thiorédoxines, fournit un système antioxydant supplémentaire pour protéger *P. falciparum* de dégâts oxydatifs.

Etant donné le rôle indispensable du système thiorédoxine chez *P. falciparum*, il pourrait constituer une cible importante pour la conception de nouveaux composés antipaludiques.

L'hypothèse selon laquelle la thiorédoxine pourrait être une cible potentielle des aculéatines se confirment notamment par les travaux de Westwell^[121] et d'Emsley^[122] sur le composé PMX464 (Fig III.8) qui présente des similitudes structurales (par la présence de la fonction cyclohexa-2,5-diénone) et fonctionnelles (du fait de leurs propriétés anticancéreuses) avec les aculéatines.

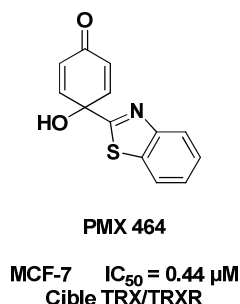


Fig III.8 : inhibiteur de la thiorédoxine

Le produit synthétique PMX 464^[123] ainsi que d'autres composés cyclohexadiénones se sont révélés être des inhibiteurs de la thiorédoxine C du *Mycobacterium tuberculosis* (MtbTrxC). Plus récemment, l'équipe d'Emsley a rapporté une structure cristallographique du site catalytique mutant de la thiorédoxine C (MtbTrxCC40S).^[122] Sur cette structure (Fig III. 9), on observe la fonction cyclohexa-2,5-diénone du PMX464 liée de façon covalente au nucléophile thiol Cys37. Elle établit également des liaisons non covalentes avec Trp36 et Asp66 du site catalytique.^[122]

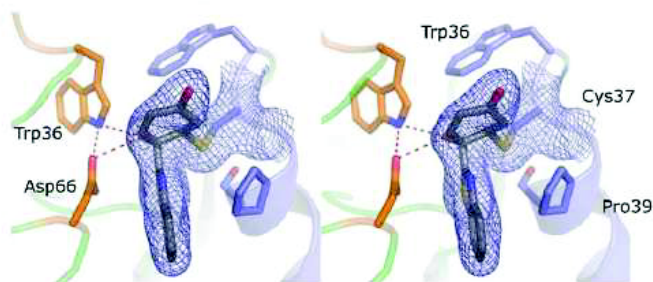


Fig III.9 : structure cristallographique de la thiorédoxine co-cristallisée avec le PMX464

Même si le système thiorédoxine pourrait être une cible potentielle des aculéatines, ces composés peuvent avoir comme cible toute une série de protéines, autre que la thiorédoxine réductase avec lesquelles elles peuvent établir des liaisons covalentes.

4) Mode d'action par inhibition des interactions protéine-protéine

En 2010, Porter *et al.*^[123] ont montré que des protéines possédant des résidus tyrosine (protéine A), (Fig III.10) peuvent subir dans des conditions de stress oxydant (forte formation de radicaux libres) dans le milieu vivant, des réactions radicalaires aboutissant à la formation de composés cyclohexa-2,5-diène. La formation de ces types de composés pourrait faire parti des signaux qui activent les protéines régulatrices des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Leur interaction de façon covalente avec d'autres protéines possédant des résidus cystéines (protéine B), pourrait induire des changements structuraux pouvant inhiber l'activation des protéines régulatrices des ROS et augmenter la production des ROS néfastes pour les cellules infectées. Les aculéatines pourraient donc miner dans le milieu vivant ces types de protéines possédant des fonctions cyclohexa-2,5-diène.

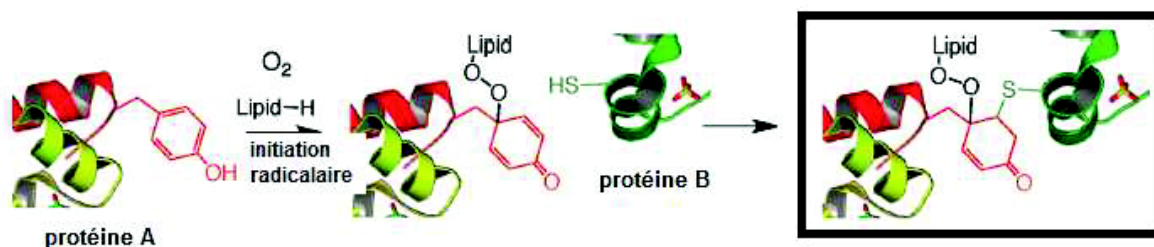
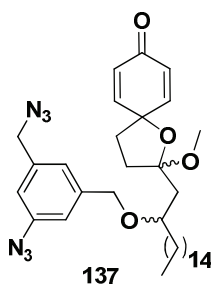


Fig III.10 : addition de Michael sur des protéines portant une fonction cyclohexa-2,5diène

↳ 5) Des outils pour la recherche de la cible des aculéatines

Les amomols représentent un modèle de composés antipaludiques efficaces qui sont obtenus facilement en grande quantité et en très peu d'étapes dans des conditions peu coûteuses (synthèse racémique). Ces caractéristiques en font des molécules de choix pour tenter des expériences de repêchage de(s) cible(s) biologiques. Même si les amomols pourraient se lier de façon covalente à leur(s) cible(s), nous avons réalisé la synthèse du composé **137** (Fig III.11), portant une fonction 'clickable' et une fonction azide photoactivable.^[124] Ce composé pourra aussi servir d'outils pour le repêchage de cible(s) des aculéatines.



137
P. falciparum IC₅₀ = 5.56 μ M

Fig.III.11 : outils pour la recherche de cibles des aculéatines

Conclusion

La formation du cation spiro-oxocarbenium a permis un accès direct à la première synthèse totale des amomols et analogues. Nous avons aussi montré que le phénoxénium piège également des fonctions carbonyle α,β -insaturée et époxyde afin de générer respectivement des intermédiaires vinyl spiro-oxocarbenium et spiro-époxonium capables de subir des additions nucléophiles. Les différents analogues obtenus nous ont permis de comprendre des caractéristiques structurales nécessaires à l'activité antipaludique des aculéatines. Nous avons également prouvé que du fait de la présence de la fonction cyclohexa-2,5-diène, les aculéatines sont des accepteurs de Michael potentiellement sélectifs.

Chapitre IV :
Synthèses et évaluations de
nouveaux
tétrapeptides cycliques

Introduction

Pour la synthèse de nouveaux tétrapeptides cycliques analogues de FR235222 et du largazole (Schéma IV.1), nous avons optés pour une stratégie de synthèse convergente afin d'apporter plus de flexibilité et de diversité dans la structure de nouveaux analogues. Cette stratégie consiste à synthétiser le cœur cyclopeptidique possédant une fonction alcène terminale qui sera ensuite couplée à différentes fonctions cétones ou thioesters capable d'interagir avec le zinc localisé dans le site catalytique. Avant les travaux du laboratoire, seule la réaction de métathèse était reportée pour fonctionnaliser l'alcène terminal du tétrapeptide cyclique à la fonction chélatante du zinc.^[86,87] Les réactions de couplage par métathèse sont peu rentables (moins de 50% de rendement), à cause des autres réactions d'homocouplage. Nous avons développé une approche radicalaire, afin de fonctionnaliser l'alcène terminal de différents tétrapeptides cycliques avec une variété de xanthates^[125] et de thioacides (Schéma IV.1). Cette stratégie nous permettra d'accéder facilement à une grande diversité de nouveaux composés analogues de FR235222 et du largazole.

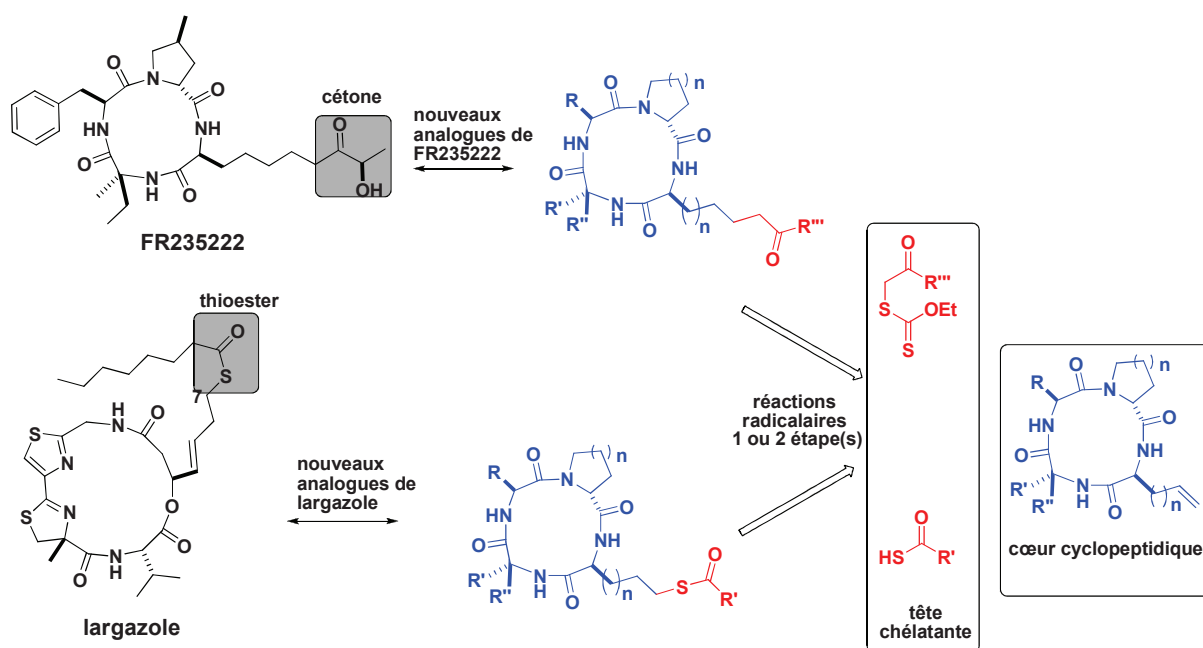


Schéma IV.1 : stratégie de synthèse de nouveaux tétrapeptides cycliques

Dans ce chapitre seront présentées, dans un premier temps les différentes méthodes utilisées pour réaliser la synthèse des tétrapeptides cycliques avec une fonction alcène terminal, puis dans un deuxième temps les méthodes développées pour fonctionnaliser l'alcène terminal du tétrapeptide cyclique avec des xanthates et thioacides capables d'interagir avec le zinc du site catalytique. L'ensemble des modifications apportées sur les résidus acides aminés constituant le cyclotétrapeptide, la longueur de la chaîne aliphatique, et les fonctions cétones et thioesters chélatantes du zinc, permettra de déduire des caractéristiques structurales importantes à l'activité antitoxoplasmose.

I) Stratégie de synthèse du cyclotétrapeptide

Durant les travaux de cette thèse, les différents cyclotétrapeptides cycliques obtenus ont été synthétisés suivant une stratégie convergente par couplage de deux dipeptides (Schéma IV.2), afin d'obtenir dans un premier temps le tétrapeptide linéaire, qui cyclise en présence de HATU pour donner le tétrapeptide cyclique final.

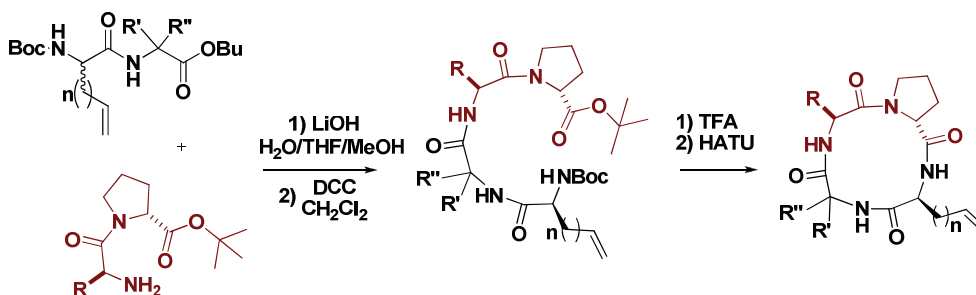


Schéma IV.2 : synthèse convergente de cyclotétrapeptides

1) Synthèse du cyclotétrapeptide (-)-144

La synthèse du résidu acide aminé avec la double liaison représente une étape importante de la synthèse du cyclotétrapeptide. Une première stratégie de synthèse à partir de la (*S*)-sérine^[126] (Schéma IV.3) a permis d'obtenir l'amino ester (*S*)-méthyl-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)hex-5-énoate (+)-139. Ce dernier a ensuite été couplé au butyl-2-amino-2-méthylpropanoate (H-Aib-OBu) 140 pour donner le premier dipeptide (-)-141. L'avantage de cette stratégie est l'obtention de l'amino ester (+)-139 en grande quantité à partir de la (*S*)-sérine qui est peu coûteuse.

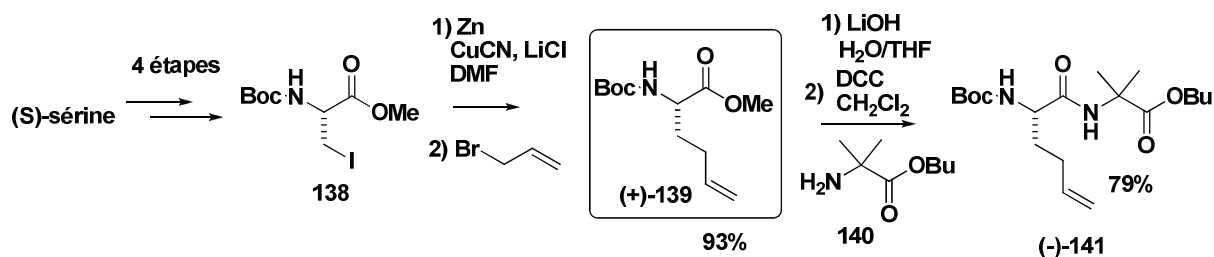


Schéma IV.3 : première stratégie de synthèse du résidu acide aminé avec la double liaison

Le couplage du dipeptide (-)-141 au dipeptide H-Phe-Pro-D-OBu (+)-142 (Schéma IV.4) a permis d'obtenir le cyclotétrapeptide (-)-144.

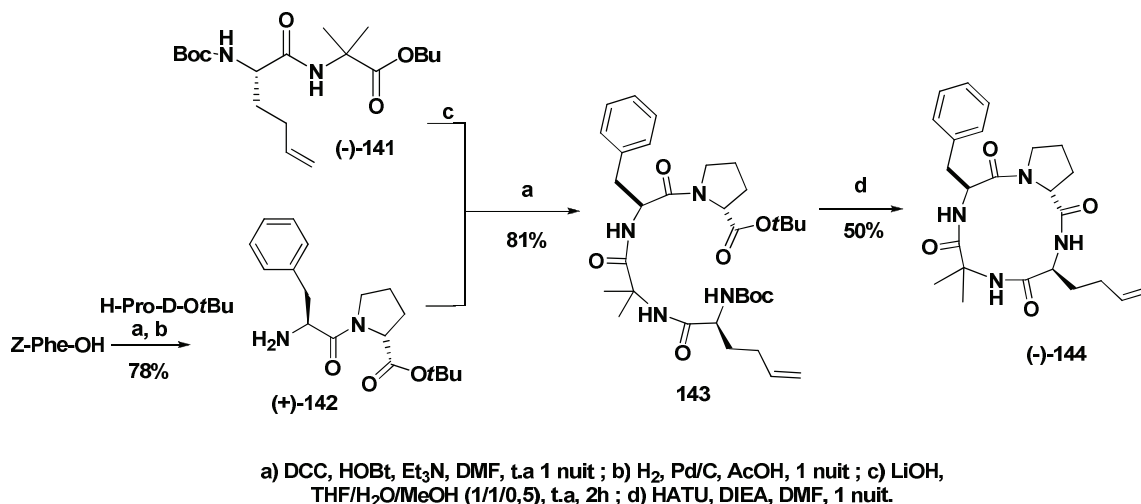


Schéma IV.4 : synthèse du cyclopeptide (-)-144

2) Synthèse de l'énantiomère du cyclopeptide (+)-144

Nous avons ensuite envisagé la synthèse de l'énantiomère du résidu (+)-139. Cette synthèse aurait pu être réalisée à partir de la (*R*)-sérine comme précédemment. Cependant, le coût bien supérieur de la (*R*)-sérine par rapport à celui de la (*S*)-sérine nous a obligés à revoir la stratégie de synthèse. Afin de pallier ce problème et d'obtenir le résidu (-)-139 en quantité raisonnable dans des conditions moins coûteuses, nous avons repris une autre stratégie de synthèse inspirée des travaux de Belokon^[127a] et reprise par Brimble^[127b] en 2010 (Schéma IV.5). A partir de la copule chirale (-)-145, elle-même obtenue à partir de la D-proline, l'amino ester (-)-139 a été obtenu avec un bon rendement. Ce dernier a ensuite été couplé à H-Aib-OfBu 140 pour donner le dipeptide (+)-141.

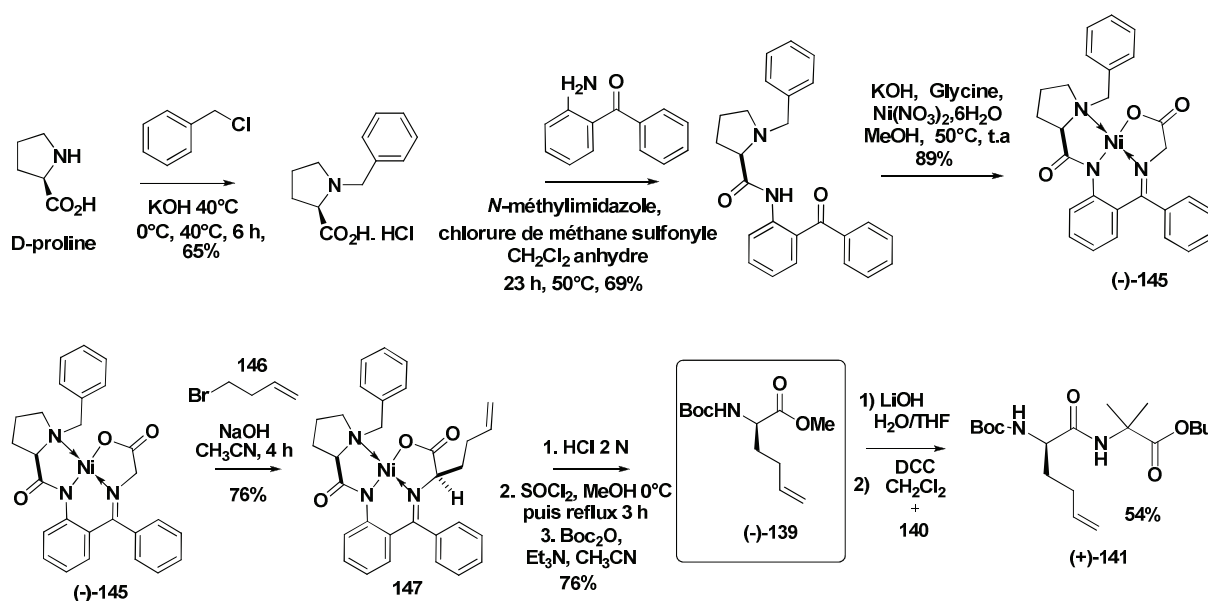


Schéma IV.5 : deuxième stratégie de synthèse du résidu acide aminé avec la double liaison

Le couplage du dipeptide **(+)-141** au dipeptide H-D-Phe-Pro-OrBu **(-)-142** a permis d'obtenir l'énantiomère du cyclopeptide **(+)-144** suivant la même approche convergente (Schéma IV.6).

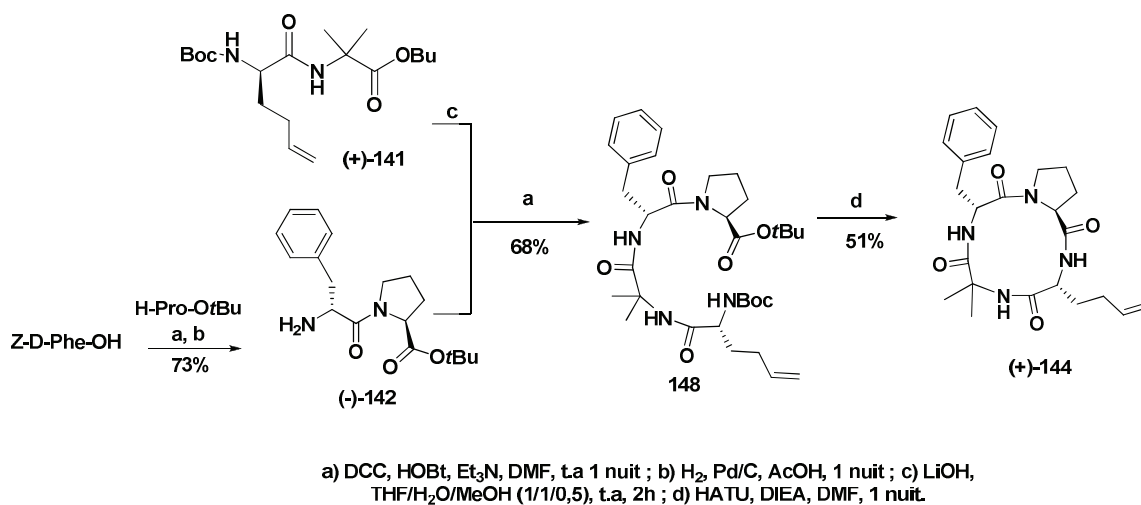


Schéma IV.6 : synthèse de l'énantiomère du cyclopeptide **(+)-144**

3) *Modification sur la chaîne latérale*

Pour la synthèse de nouveaux analogues du largazole avec une fonction thiol chélatante, la distance de cinq atomes de carbone entre le cyclotérapeptide et la fonction chélatante a été décrite comme la longueur optimale pour produire une activité HDACi.^[74] L'analogue **25** (voir chapitre II, Fig II.11), avec une fonction pont disulfure comme pro-drogue, est l'un des composés les plus actifs avec 5 atomes de carbone comme espaceur entre le cœur cyclotérapeptidique et la fonction tête chélatante thiol. D'autres composés synthétiques^[75] de type **27** (voir chapitre II, Fig II.12) avec une fonction thioester, présentent également une distance de 5 atomes de carbone. Nous nous sommes intéressés à l'influence que pourrait avoir la longueur de la chaîne latérale sur l'activité antitoxoplasmose, ce qui nous a conduit à réaliser la synthèse du cyclotérapeptide **(-)-154** qui présente un atome de carbone en plus sur la chaîne latérale par rapport au cyclopeptide initial **(-)-144**. La stratégie de synthèse du résidu acide aminé avec la double liaison repose sur la même approche utilisée précédemment (voir Schéma IV.5), et nous a permis d'obtenir l'amino ester **(+)-151** (Schéma IV.7). Cette synthèse a été réalisée à partir de la copule chirale **(+)-145**, elle-même obtenue à partir de la L-proline.

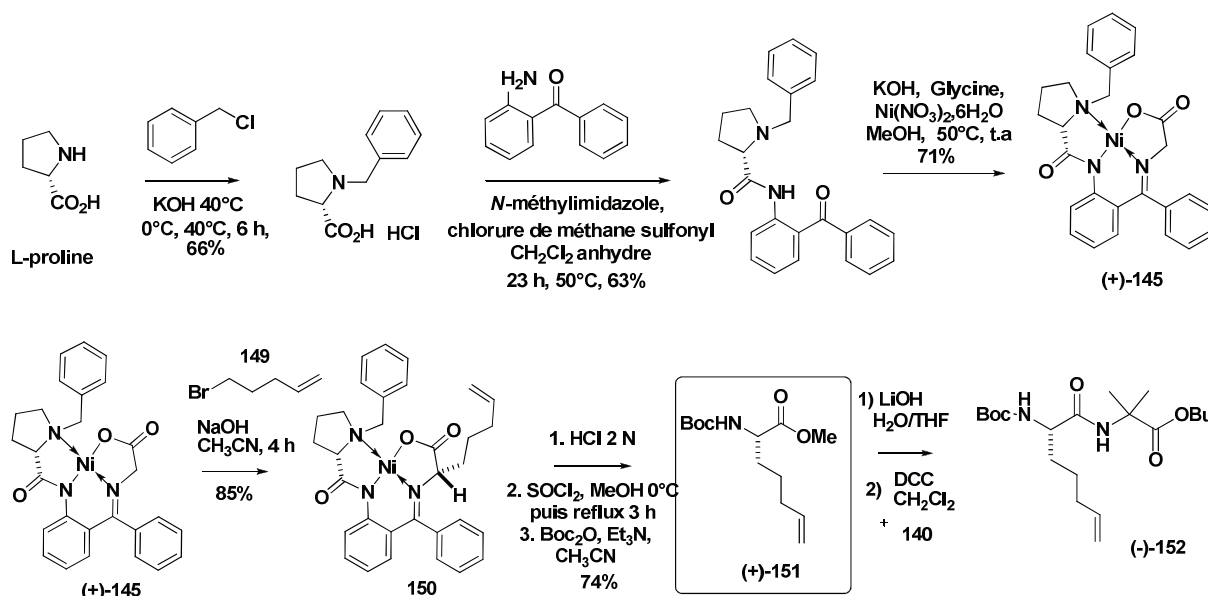


Schéma IV.7 : synthèse du résidu acide aminé avec un carbone en plus sur la chaîne latérale

Le couplage du dipeptide (-)-152 au H-Phe-Pro-D-OtBu (+)-142 a permis d'obtenir le cyclopeptide (-)-154 (Schéma IV.8).

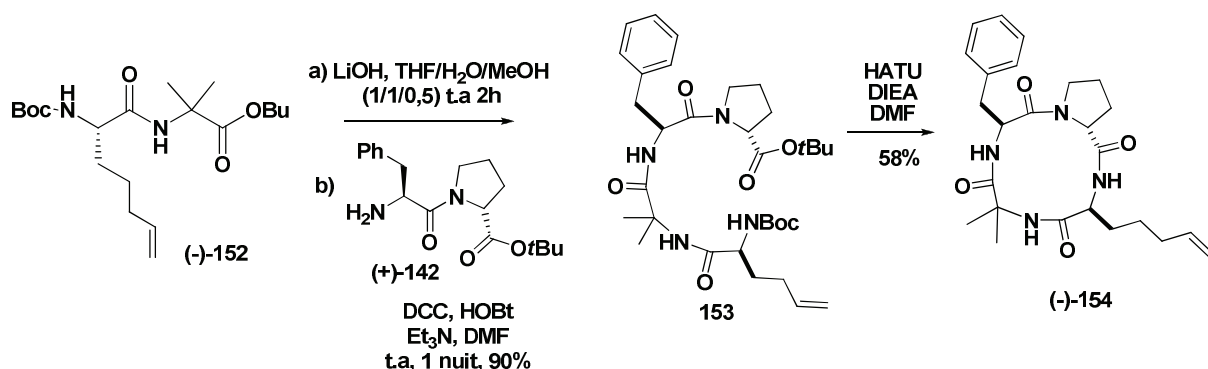


Schéma IV.8 : synthèse du cyclopeptide avec un carbone en plus sur la chaîne latérale

3) Modifications portant sur les résidus des acides aminés du cyclotétrapeptide : l'influence du groupement phényle

On rencontre des groupements aromatiques dans la plupart des composés naturels et synthétiques possédant une activité HDACi. Les groupements aromatiques (hydrophobes plan) joueraient un rôle important dans les interactions avec les surfaces extérieures du site catalytique. D'après Nishino *et al.*, ces interactions hydrophobes contribuent aussi favorablement à la stabilité des complexes cyclotétrapeptidiques.^[128] Nous nous sommes également intéressés à ce paramètre hydrophobe, et

avons réalisé la synthèse de trois nouveaux cyclotétrapeptides qui sont le composé **(-)-155**, où le groupement phényle a été remplacé par une fonction cyclohexane et les composés **(-)-156** et **(-)-157** dans lesquels a été rajouté un deuxième groupement phényle à la place du résidu Aib avec respectivement les configurations L et D (Schéma IV.9). Ces différents cyclotétrapeptides nous permettront d'évaluer la contribution du groupement phényle dans différentes positions sur le cyclotétrapeptide, sur l'activité antiparasitaire.

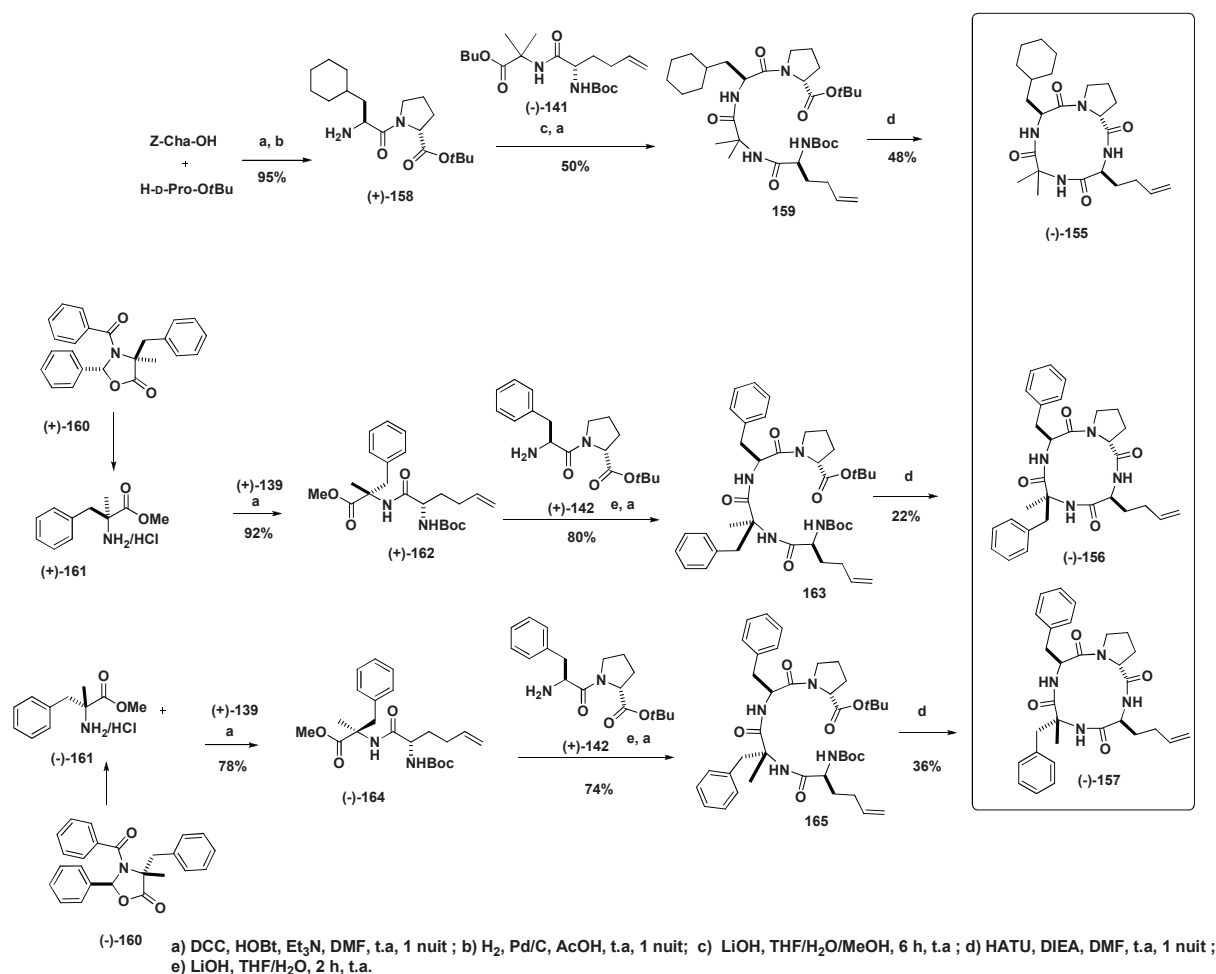


Schéma IV.9 : variation de la position du groupement phényle sur le cyclotétrapeptide

Pour obtenir le cyclotétrapeptide **(-)-155**, nous avons d'abord synthétisé le dipeptide **(+)-158** à partir de l'acide aminé Z-Cha-OH et du H-D-Pro-OrBu. Le dipeptide **(+)-158** a ensuite été couplé au dipeptide **(-)-141** pour former le tétrapeptide linéaire **159** qui a permis d'obtenir le cyclotétrapeptide **(-)-155** après une étape de cyclisation. Afin de réaliser la synthèse des cyclopeptides **(-)-156** et **(-)-157**, les résidus amino esters quaternaires optiquement actifs **(+)-161** et **(-)-161** (Schéma IV.9) ont été obtenus conformément aux procédures de Seebach et de Mutter^[129] à partir des synthons chiraux **(+)-160** et **(-)-160**^[130] correspondants. Les dipeptides **(+)-162** et **(-)-164** obtenus ont été couplés au

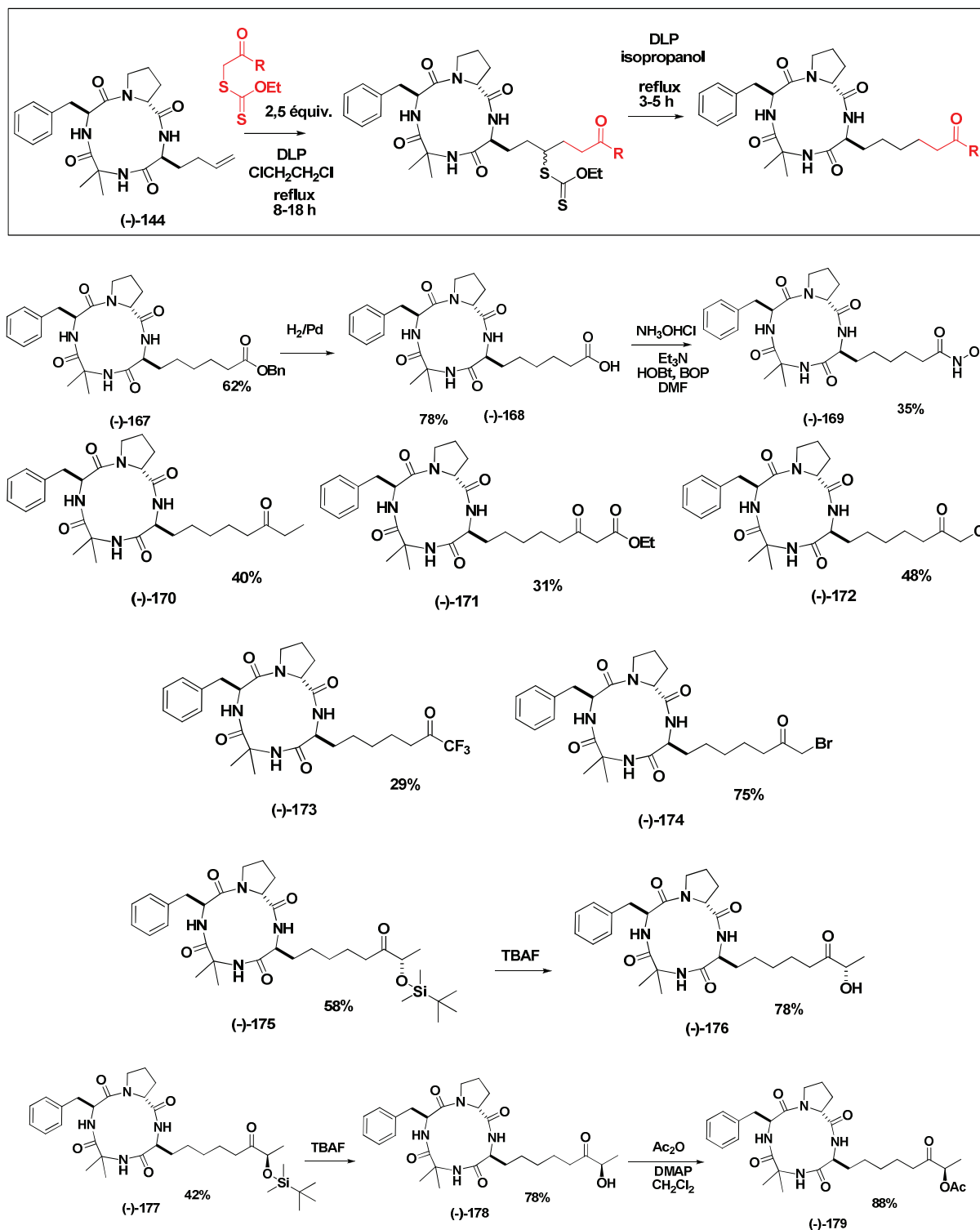


Schéma IV.11 : synthèse de nouveaux analogues de FR235222

Des hémisynthèses à partir du produit naturel FR235222 ont aussi été réalisées (Schéma IV.12) et ont porté notamment sur des modifications de la fonction hydroxyle en α du carbonyle en ester (composés **180** et **181**). L'analogue **182** avec une fonction cétone simple, que l'on retrouve également dans le

produit naturel apidicine a été synthétisé *via* le composé **181** par réaction de déshydroxylation radicalaire.

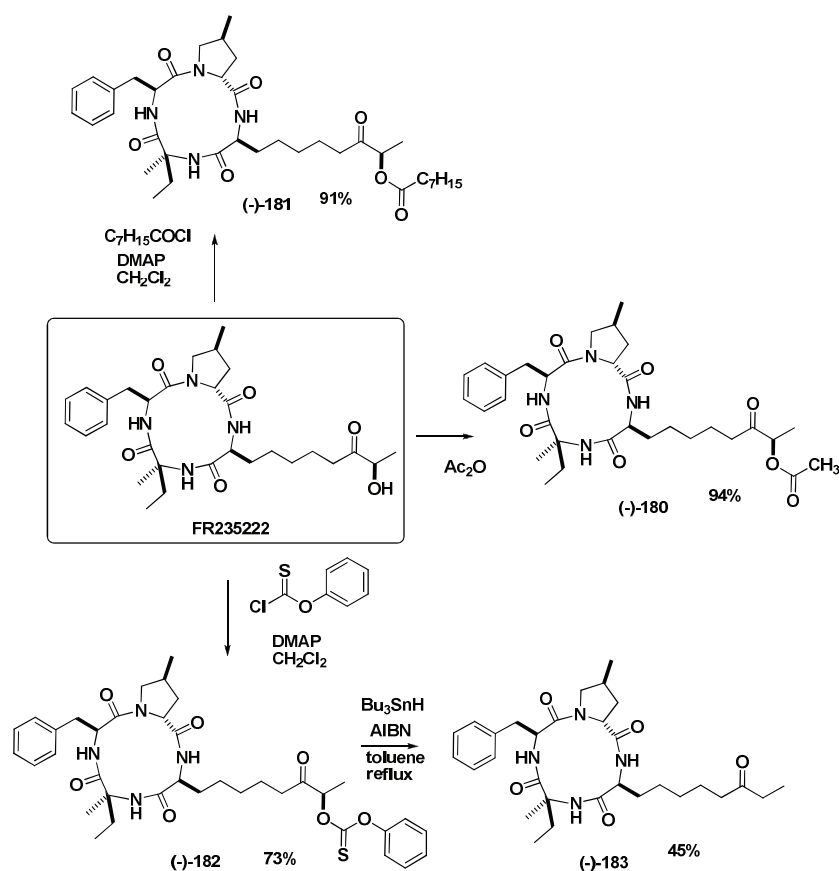


Schéma IV.12 : hémisynthèses à partir du produit naturel FR235222

A partir des cyclopeptides **(-)-155**, **(-)-156** et **(-)-157** (voir Schéma IV.9), les analogues **(-)-184**, **(-)-185**, **(-)-186** ont été obtenus par réaction radicalaire avec le xanthate **166g** (Schéma IV.13).

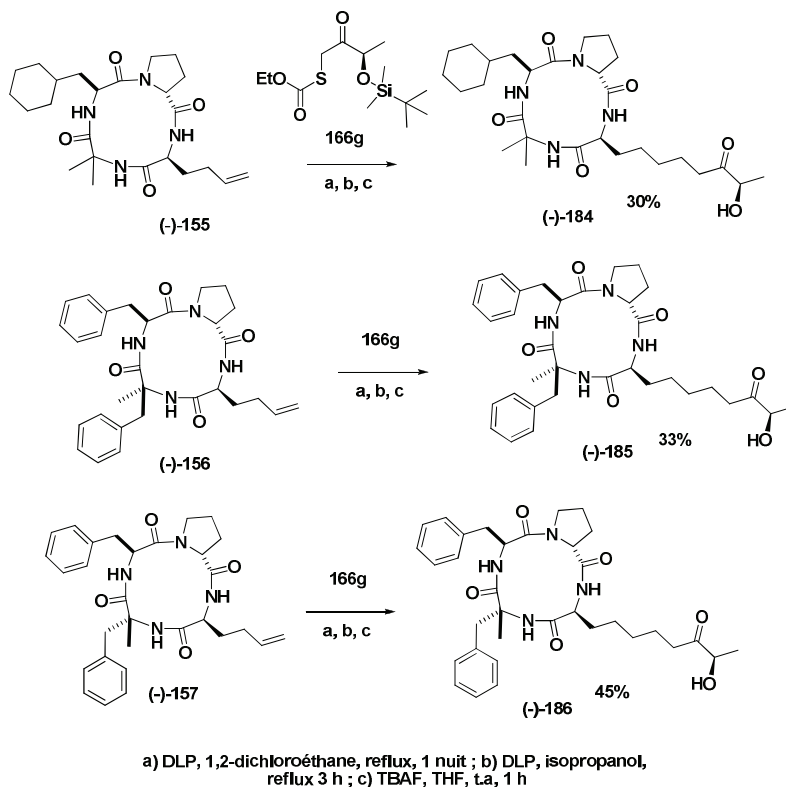


Schéma IV.13 : variation de la position du phényle dans les nouveaux analogues de FR235222

L'énantiomère (+)-144 du cyclopeptide (voir Schéma IV.6) a également été couplé au xanthate **166g** pour obtenir le composé (+)-176 (Schéma IV.14).

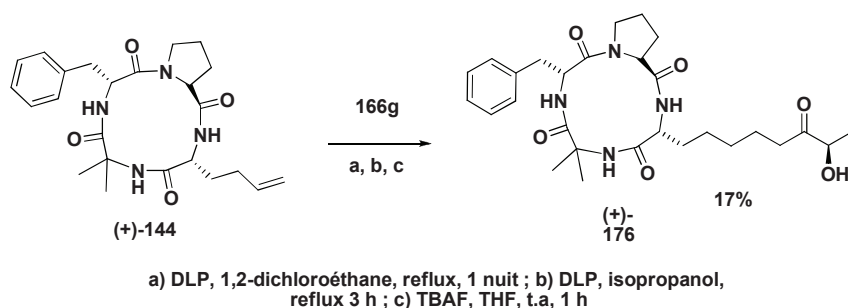
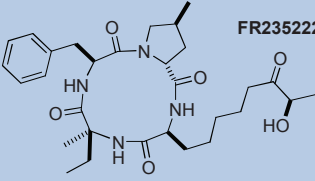
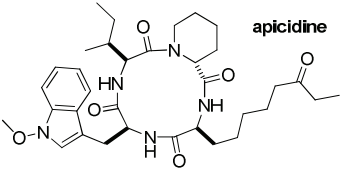
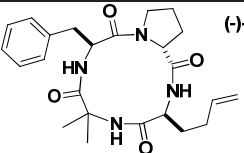
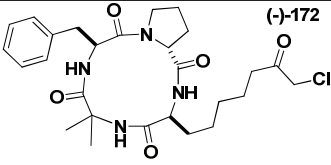
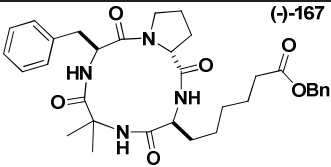
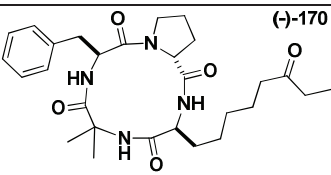
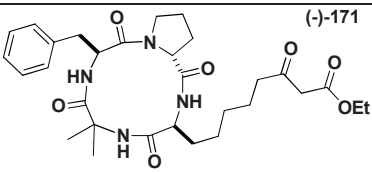


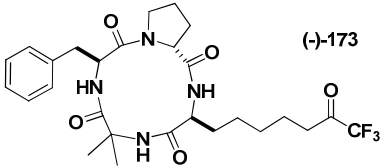
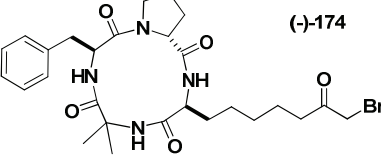
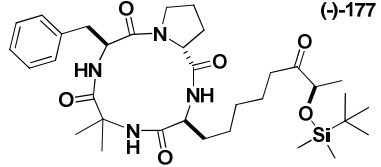
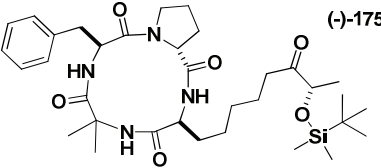
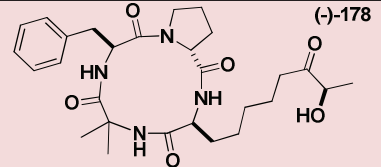
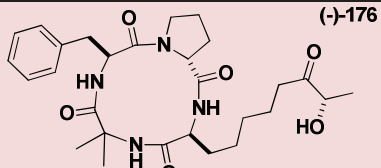
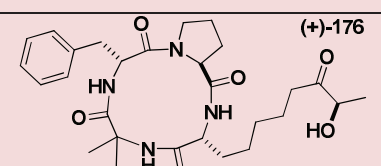
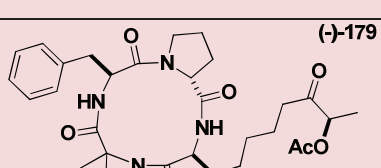
Schéma IV.14 : fonctionnalisation de l'énantiomère de cyclopeptide

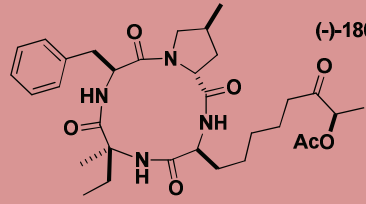
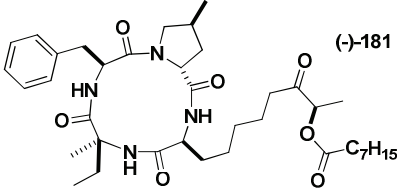
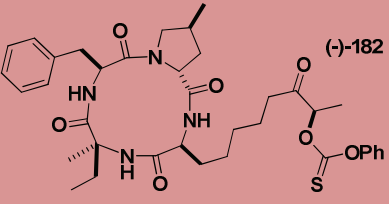
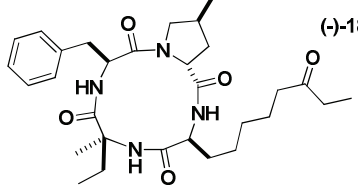
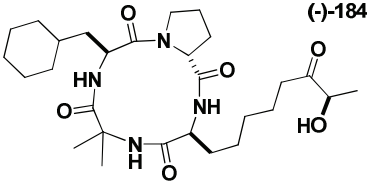
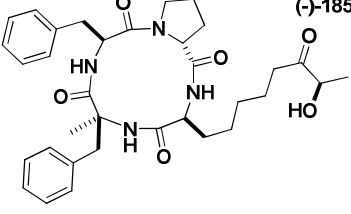
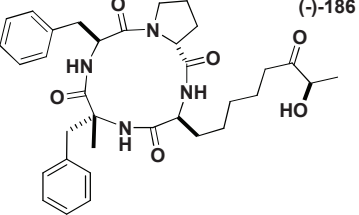
➡ 1) *Evaluation biologique de ces nouveaux analogues*

Les propriétés biologiques des premiers composés obtenus ont été évaluées pour dégager les premiers éléments de relations structure-activité (Tableau IV.1). Certains composés obtenus ont présenté des propriétés antitoxoplamoses très intéressantes (entrées 15, 16), notamment avec des valeurs d'index de

sélectivité supérieures à celle du produit naturel FR235222 qui présente l'inconvénient d'être cytotoxique avec un index de sélectivité faible de 13.1.

entrée	Produits	% d'inhibition de la souche RH à 90 nM	IC ₅₀ souche RH ^[a] (nM)	IC ₅₀ souche HFF ^[b] (nM)	SI (IC ₅₀ HFF/ IC ₅₀ RH)
1	 FR235222	100	9,7	127	13,1
2	 apicidine	100	15	165	11
3	 (-)-144	0	-	-	
4	 (-)-172	28	-	-	
5	 (-)-167	0	-	-	
6	 (-)-170	52	172	243	1,4
7	 (-)-171	0	-	-	

8	 <p>(-)-173</p>	0	-	-	
9	 <p>(-)-174</p>	58	nd	456	
10	 <p>(-)-177</p>	22	-	-	
11	 <p>(-)-175</p>	20	-	-	
12	 <p>(-)-178</p>	100	28,6	648	22,7
13	 <p>(-)-176</p>	40	47	909	19,3
14	 <p>(+)-176</p>	48	98	735	7,5
15	 <p>(-)-179</p>	100	17	256	15

16		100	10,2	632	61,9
17		100	14,3	66,8	4,7
18		100	11,3	539	47,7
19		76	95,3	805	8,5
20		0	-	> 4000 ^[c]	-
21		0	-	-	-
22		0	-	-	-

[a] RH = souche RH Type 1 *T. gondii*, [b] HFF = human foreskin fibroblast

Tableau IV.1 : évaluation des activités biologiques des premiers analogues obtenus

Pour les analogues présentant un pourcentage d'inhibition supérieur à 40% à 90 nM sur la souche *T. gondii* RH, les valeurs d'IC₅₀ sur les souches *T. gondii* RH et HFF ont été évaluées pour déterminer les valeurs d'index de sélectivité (SI).

La fonction (*R*)-hydroxy cétone acétylée des analogues (–)-**179** et (–)-**180** (entrées 15, 16) a été identifiée comme la meilleure fonction chélatante contre *T. gondii* (IC₅₀ = 17 et 10 nM). L'analogue (–)-**178** (entrée 12) ayant une configuration (*R*)-hydroxy cétone s'est révélé plus efficace que son diastéréoisomère (*S*)-hydroxy cétone (–)-**176** (entrée 13), ce qui démontre une configuration préférentielle pour l'activité inhibitrice des HDACs. Pour la synthèse des autres analogues la configuration (*R*)-hydroxy cétone sera privilégiée. L'acétylation du groupement hydroxyle augmente considérablement la valeur d'index de sélectivité, notamment celle du composé (–)-**180** (SI = 61,9 ; entrée 16). L'augmentation de la longueur de la chaîne de la fonction ester avec le groupe heptanyle réduit la sélectivité de (–)-**181** (entrée 17). L'analogue (–)-**182** avec une fonction carbonyl xanthate (entrée 18) s'est aussi révélé très efficace (IC₅₀ = 11,3 nM ; SI = 47,7). Par ailleurs, le cyclopeptide (–)-**144** sans la fonction interagissant avec le zinc du site catalytique n'a montré aucune activité à 90 nM (entrée 3), tout comme les analogues présentant une fonction α -chloro cétone (entrée 4), α -hydroxyle cétone silylée (entrées 10, 11)...

Afin d'évaluer l'influence du groupement phényle, nous avons choisi la meilleure fonction chélatante (*R*)- α -hydroxycétone pour fonctionnaliser les cyclopeptides (–)-**155**, (+)-**156**, et (–)-**157** (Schéma IV.9). Les nouveaux analogues, (–)-**184**, (–)-**185** et (–)-**186** (Schéma IV.11) obtenus n'ont présenté aucune propriété antitoxoplasmose (entrées 20-22). Ces résultats indiquent que la perte ou la présence d'un groupement phényle supplémentaire est défavorable à l'activité antiparasitaire.

↪ 2) L'énantiomère du cyclopeptide

L'énantiomère du cyclopeptide normal (+)-**144** a également été fonctionnalisé par la tête chélatante (*R*)-hydroxycétone afin d'obtenir le composé (+)-**176** (entrée 14). Ce dernier s'est révélé moins efficace que l'analogue (–)-**178** (entrée 12) qui présente la même fonction chélatante. En induisant une inhibition de la croissance des souches *T. gondii* RH à 48%, l'analogue (+)-**176** (entrée 14) est donc capable d'atteindre sa cible et de traverser les membranes cellulaires. Dès lors que les deux énantiomères du cyclotétrapeptide traversent les membranes cellulaire, nous pouvons en déduire que ces cyclotétrapeptides pourraient avoir un mode de passage passif. La faible activité inhibitrice de l'analogue (+)-**176** par rapport à l'analogue (–)-**178** proviendrait d'une moins bonne reconnaissance avec la cible.

III) Synthèse de nouveaux composés analogues du largazole avec une fonction thioester

Pour la synthèse de nouveaux composés analogues du largazole, avec une fonction thioester interagissant avec le zinc dans le site catalytique, les deux cyclopeptides (–)-144 et (–)-154 différents par la longueur de la chaîne aliphatique ont été couplés à différents thioacides par réaction radicalaire en présence d'AIBN (Schéma IV.15). L'activité inhibitrice des composés (–)-187, (–)-188, (–)-189, et (–)-190 obtenus a été évaluée sur les souches *T. gondii* RH et HFF (Tableau IV.2).

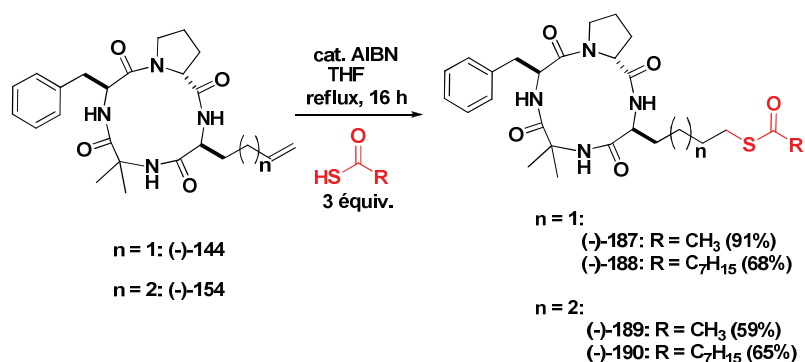
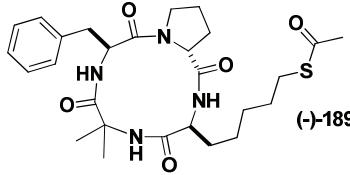
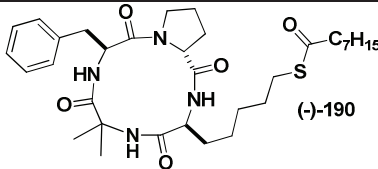
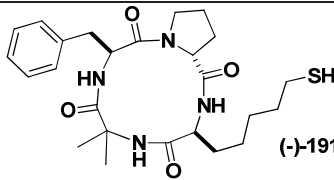


Schéma IV.15 : stratégie de synthèse de nouveaux analogues du largazole

entrée	produits	% d'inhibition de la souche RH à 90 nM	IC ₅₀ souche RH ^[a] (nM)	IC ₅₀ souche HFF ^[b] (nM)
1	 (–)-187	0	-	-
2	 (–)-188	0	-	-

3	 <chem>CC(=O)SCCCC[C@@H]1C(=O)N[C@@H](Cc2ccccc2)C(=O)N[C@@H](C)C1=O</chem> (-)-189	0	-	120
4	 <chem>CCCCC(=O)SCCCC[C@@H]1C(=O)N[C@@H](Cc2ccccc2)C(=O)N[C@@H](C)C1=O</chem> (-)-190	0	-	82
5	 <chem>SCCCC[C@@H]1C(=O)N[C@@H](Cc2ccccc2)C(=O)N[C@@H](C)C1=O</chem> (-)-191	0	-	nd

[a] RH = souche RH Type 1 *T. gondii*, [b] HFF = human foreskin fibroblast

Tableau IV.2 : activités antitoxoplasmoses de nouveaux analogues du largazole

Les composés (-)-187 et (-)-188 n'ont présenté aucune activité inhibitrice ni sur *T. gondii*, ni sur les cellules HFF humaines. Ce résultat confirme une fois de plus, que la longueur optimale pour l'activité HDACi est de 5 atomes de carbones entre le cyclotétrapeptide et la fonction thiol. En effet, le zinc du site catalytique se trouve dans un tunnel et pour franchir ce tunnel, la longueur de la chaîne latérale semble être un facteur important. Les composés (-)-189 et (-)-190 obtenus avec la bonne longueur de chaîne latérale se sont révélés cette fois-ci actifs, mais uniquement sur humain et non sur le parasite *T. gondii* à 90 nM. Cette différence de sélectivité pourrait s'expliquer par le fait que les nouveaux composés synthétiques analogues du largazole seraient également des inhibiteurs sélectifs d'HDACs. Mais cette sélectivité entre les cellules HFF humaines et le parasite pourrait aussi être due à la présence de la fonction thioester qui ne serait pas hydrolysable *in vivo* chez les espèces parasites comme *T. gondii*. Afin d'étudier cette éventualité, nous avons décidé de déprotéger la fonction thioester prodrogue afin d'obtenir le composé (-)-191 avec une fonction thiol libre. Ce dernier a présenté les mêmes activités biologiques que son analogue thioester (Tableau IV.2, entrée 5), ce qui nous permet de rester sur notre première hypothèse, à savoir que la différence de sélectivité observée entre l'humain et le parasite pourrait être due au fait que nos nouveaux analogues synthétiques sont des inhibiteurs sélectifs d'isoformes HDACs. Ils semblent agir sur une classe de HDAC, peut être HDAC6, qui est absent chez le parasite *T. gondii* (voir chapitre II, Fig II.12).^[75]

V) Synthèse d'autres analogues avec l'ouverture du cycle de la proline par le SmI_2

Au cours de nos tentatives pour réduire par SmI_2 ^[132] la fonction hydroxyle en position α de la fonction cétone chélatante de FR235222, pour obtenir un nouvel analogue (–)-**183** (Schéma IV.16) présentant une fonction cétone simple (comme dans l'apicidine), une réduction de la liaison C-N du résidu 3-méthyle proline a été observé. A la place du composé (–)-**183** avec un cycle à 12, le composé (–)-**192** constitué d'un cycle à 15 a été isolé avec un bon rendement.

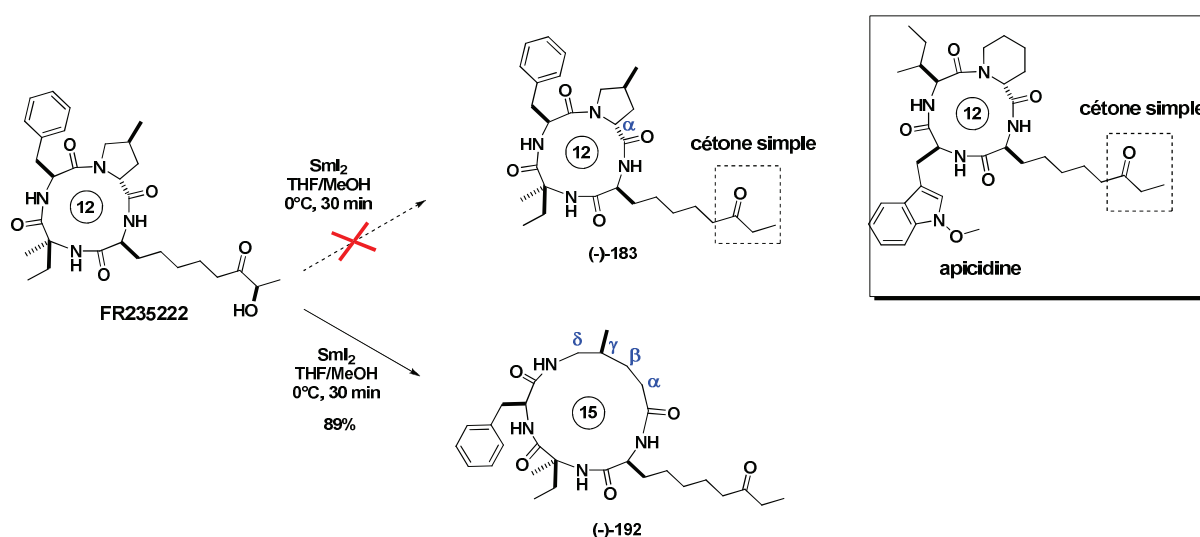
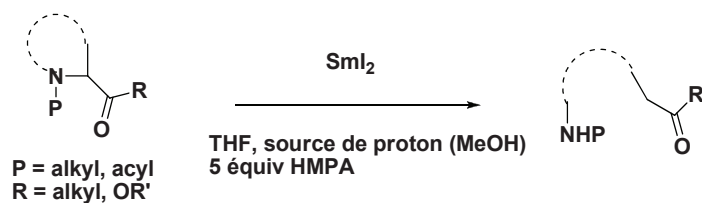
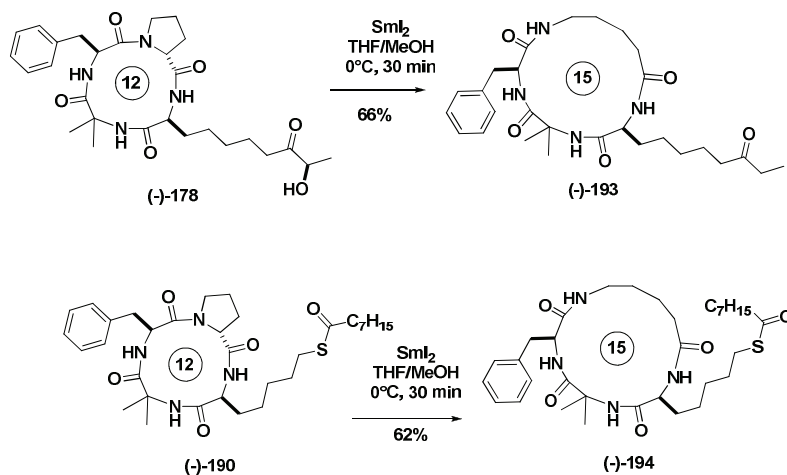


Schéma IV.16 : Réduction de la liaison C-N par SmI_2

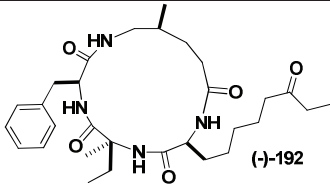
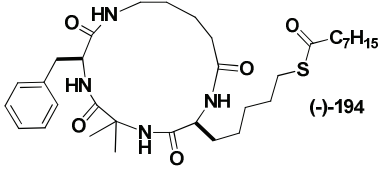
Les tétrapeptides cycliques constitués de 4 résidus acide α aminé (cycle α_4) (Schéma IV.16) dont un résidu proline peuvent donc subir une expansion de cycle par une réaction de réduction de la liaison C-N en présence de SmI_2 , pour fournir des cyclopeptides plus larges constitués de 3 résidus acide α aminé et un résidu acide δ aminé (cycle $\alpha_3\delta$). Ces réactions représentent une nouvelle approche pratique et directe, permettant d'apporter plus de diversité dans la partie cyclopeptidique de nos analogues. Des réactions de réduction ou d'oxydation ont déjà été exploitées pour élargir des macrocycles^[133] fonctionnalisés. La réaction de clivage de liaison C-N des acides α aminés cycliques en présence de SmI_2 était connue dans la littérature, notamment à travers les travaux de Honda^[134] (Schéma IV.17) qui utilise la réaction de désamination réductrice avec SmI_2 , dans des conditions nécessitant la présence d'un donneur de proton et aussi de l'hexaméthylphosphoramide (HMPA). Mais ce type de réaction n'avait jamais été utilisée auparavant sur des composés complexes comme les cyclotétrapeptides et sans HMPA.

Schéma IV.17 : ouverture de cycle par SmI_2 par Honda

Cette approche a ensuite été utilisée pour réaliser la synthèses des composés (–)-**193** et (–)-**194** de type cycle $\alpha_3\delta$ à partir des composés (–)-**178** et (–)-**190** (Schéma IV.18). L'obtention de ces nouveaux analogues sans le groupement méthyle sur la proline, dans les mêmes conditions que précédemment (Schéma IV.16), c'est-à-dire sans HMPA, nous confirme que l'élargissement du cycle est facilité par la tension générée par le cycle à 5 de la proline.

Schéma IV.18 : nouveaux analogues avec le cycle $\alpha_3\delta$

Les nouveaux analogues obtenus ont mis en lumière l'importance de la structure tétrapeptidique de type cycle α_4 dans l'activité antiparasitaire. Aucun des nouveaux composés avec le cycle $\alpha_3\delta$ ne s'est révélé efficace contre le parasite (Tableau IV.3). Cette caractéristique structurale sera prise en compte pour la conception de futurs HDACis plus efficaces et sélectifs de *T. gondii*.

entrée	Produits	% d'inhibition de la souche RH à 90 nM	IC ₅₀ souche RH ^[a] (nM)	IC ₅₀ souche HFF ^[b] (nM)
1	 (-)-192	22	-	-
2	 (-)-194	0	-	> 4000

[a] RH = souche RH Type 1 *T. gondii*, [b] HFF = human foreskin fibroblast

Tableau IV.3 : propriétés antitoxoplasmoses de nouveaux analogues $\alpha_3\delta$.

Conclusion

En utilisant des méthodes de synthèse flexibles et modulables, *via* la chimie radicalaire avec les xanthates et thioacides et l'extension de cycle au SmI_2 , divers composés analogues de FR235222 et du largazoles ont été obtenus. L'évaluation des propriétés antitoxoplasmoses des nouveaux analogues obtenus a permis de dégager des caractéristiques structurales indispensables à l'activité antitoxoplasmose. Pour les analogues de FR235222 avec une fonction α hydroxy cétone, une acétylation de la fonction hydroxyle améliore l'index de sélectivité. Avec les analogues du largazole présentant une fonction thioester, la longueur de 5 atomes de carbones entre le cyclopeptide et la fonction chélatante (thiol libre) est requise pour l'activité HDACi sur HDAC humain. Le squelette du cyclotétrapeptide avec 4 résidus d'acide α -aminé (cycle type α_4) présenterait une tension de cycle, vraisemblablement favorable à la reconnaissance de la cible, contrairement aux analogues présentant un cycle plus large de type $\alpha_3\delta$.

Conclusion générale et perspectives

➡ 1) Conclusions

Les principaux résultats obtenus à l'issue des travaux de cette thèse se situent à différents niveaux.

- ❖ Dans le but de développer des méthodes peu coûteuses de synthèse de nouveaux composés antipaludiques accessibles aux populations affectées, nous avons réalisé la première synthèse totale des amomols, produits naturels de la famille des aculéatines. Cette synthèse a été réalisée *via* la formation d'un intermédiaire spiro-oxocarbénium qui a ainsi été mis en évidence pour la première fois. Les propriétés antipaludiques des amomols sont comparables à celles des aculéatines, de l'ordre de 0,5 μM , avec en plus l'avantage d'être plus facilement accessibles en grande quantité en seulement 4 étapes (synthèse racémique). Dans la famille des aculéatines, les amomols représentent de nouveaux composés antipaludiques, très prometteurs pour la conception de nouveaux médicaments à moindre coût en synthèse. Cette famille de produits d'origine naturelle a par la suite été retenue pour mener des études biologiques dans le but de déterminer la (les) cible(s) biologiques des aculéatines.

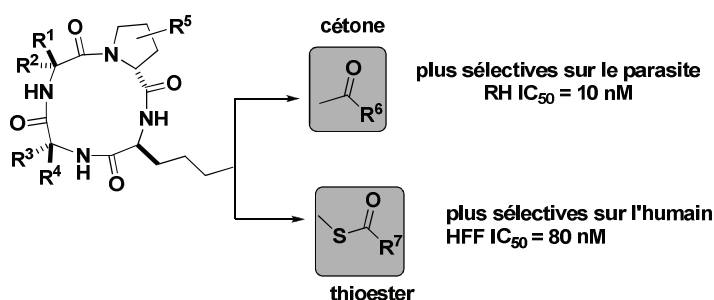
Durant les travaux de cette thèse, nous nous sommes intéressés à des stratégies de synthèse rapide, en formant plusieurs liaisons en seulement une étape. Pour cela, l'accent a été mis sur les réactions en cascade *via* la formation de nouvelles espèces intermédiaires électrophiles (spiro-oxocarbénium, vinyl spiro-oxocarbénium et spiro-époxonium) afin d'accéder rapidement à de nouveaux composés spiraniques analogues des aculéatines. Toujours dans le but de créer plusieurs liaisons en un 'pot', le concept de réaction tandem a aussi été étudié *via* la synthèse d'un analogue hybride. Cette synthèse a nécessité la mise en place d'une méthode de génération *in situ* de réactif à l'iode hypervalent (III).

L'évaluation de l'activité antipaludique des différents analogues obtenus, nous a permis de comprendre des caractéristiques structurales nécessaires à l'activité biologique.

- ❖ Nous avons aussi réalisé la synthèse de nouveaux tétrapeptides cycliques HDACis analogues de FR222235. Cette nouvelle approche pourrait être très prometteuse pour la conception de nouveaux composés antipaludiques et antitoxoplasmoses. Afin d'accéder facilement à une grande diversité structurale de nouveaux analogues de FR235222, des méthodes de synthèses modulable par réactions radicalaires, et par extension de cycle avec SmI_2 ont été développées. Plusieurs paramètres influençant l'activité biologique ont été déterminés :
 - la configuration du cyclopeptide (*via* la synthèse des deux énantiomères) jouerait un rôle important dans la reconnaissance.

- La configuration (*R*)-hydroxycétone de la tête chélatante est privilégiée dans les interactions avec le zinc du site catalytique.
- Une acétylation de la fonction (*R*)-hydroxycétone a permis d'améliorer considérablement l'index de sélectivité notamment avec le composé (–)-**180**.
- Les nouveaux analogues du largazole, avec une fonction thioester et thiol libre, semblent avoir des propriétés d'inhibition sélectives sur certaines histones désacétylases.

Enfin, en jouant sur la nature de la fonction tête chélatante, nous avons développé de nouveaux composés antiparasitaires avec une fonction cétone chélatante, plus sélective sur le parasite par rapport à l'hôte. Les analogues présentant une fonction thioester se sont révélés plus sélectifs sur l'humain et n'ont présenté aucune activité inhibitrice sur le parasite.



↳ 2) Perspectives

Les analogues synthétiques des aculéatines obtenus durant les travaux de cette thèse ont permis de dégager des caractéristiques structurales nécessaires à l'activité antipaludique. Il serait intéressant de continuer les études biologiques afin de déterminer la cible biologique de la famille des aculéatines qui pourrait être une nouvelle cible. La connaissance du mode d'action des aculéatines pourrait être très utile pour la synthèse de meilleurs analogues en utilisant des outils de modélisations moléculaire et/ou QSAR en vu d'optimiser l'activité antipaludique par rapport aux produits naturels.

De même, afin de réaliser la synthèse de futurs analogues de FR235222 efficaces, des études de modélisation moléculaire sont actuellement en cours. Le mode d'action des tétrapeptides cycliques a beaucoup été étudié, grâce à la structure cristallographique de plusieurs familles de HDACs. Grâce à la description très récente de la structure cristallographique du HDAC3 humain,^[67] il existe à présent des possibilités de réaliser des études fiables de docking par modélisation moléculaire.

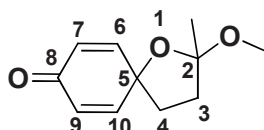
Parties expérimentales

General procedure of phenolic oxidation

Method A: To a stirred ice-cold solution of phenol (0.1 M) in the appropriate solvent was added alcohol (10 equiv) and PIDA (1.5 equiv). The mixture was stirred at 0°C for 5 min and at room temperature for 30 min, after which time solid NaHCO₃ was added. The solid was then removed by filtration and the solution was concentrated *in vacuo* to give a mixture which was purified by flash chromatography.

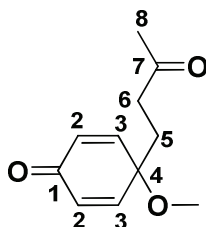
Method B: To a stirred ice-cold solution of phenol (0.1 M) in anhydrous methanol was added hypervalent iodine reagent (1.5 equiv). The mixture was stirred at 0°C for 5 min and at room temperature for 30 min, after which time solid NaHCO₃ was added. The solid was then removed by filtration and the solution was concentrated *in vacuo* to give a mixture which was purified by flash chromatography.

(±) 2-Methoxy-2-methyl-1-oxaspiro [4.5] deca-6,9-dien-8-one [(±)-87]



According to **Method A**, and starting from 4-(4-hydroxyphenyl)butan-2-one (115 mg, 0.70 mmol) and anhydrous MeOH (224 mg, 7.0 mmol) in CH₂Cl₂ (5 mL), the crude product was purified by flash chromatography on silica gel column, eluting with cyclohexane/EtOAc (75/25), to give (±)-**87** (94.0 mg, 0.48 mmol, 69%) along with **88** (11 mg, 0.057 mmol, 8%). *R_f* = 0.23 (75/25 cyclohexane/EtOAc); IR *v*_{max} (film, CH₂Cl₂) 3428, 2900, 1714, 1396, 1126 cm⁻¹; UV (MeOH) 220 nm; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.48 (s, 3H, CH₃), 1.94–2.04 (m, 2H, 2×H₄), 2.21 (m, 1H, 1×H_{3a}), 2.36 (m, 1H, 1×H_{3b}), 3.26 (s, 3H, OCH₃), 6.05 (dd, *J* = 10.0, 1.8 Hz, 1H, 1×H₆), 6.08 (dd, *J* = 10.0, 1.8 Hz, 1H, 1×H₁₀), 6.75 (dd, *J* = 10.0, 3.0 Hz, 1H, 1×H₉), 6.82 (dd, *J* = 10.0, 3.0 Hz, 1H, 1×H₇); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 21.4 (CH₃), 35.4 (CH₂, C₄), 39.1 (CH₂, C₃), 48.9 (CH₃, OCH₃), 78.7 (C, C₅), 109.7 (C, C₂), 126.9 (CH, C₇), 127.4 (CH, C₉), 149.2 (CH, C₆), 151.5 (CH, C₁₀), 185.5 (C, C₈); LMRS (ESI⁺): *m/z* (%) 217 [M + Na]⁺ (38), 203 (100), 163 (75); HRMS (ESI⁺) *m/z* found 217.0838. C₁₁H₁₄O₃Na requires 217.0835.

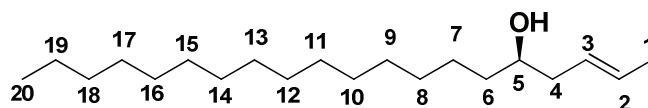
4-Methoxy-4-(3-oxobutyl) cyclohexa-2,5-dienone (**88**)



According to **Method B** using PIFA as oxidant (220.2 mg, 0.51 mmol) and starting from 4-(4-hydroxyphenyl)butan-2-one (56 mg, 0.34 mmol) in anhydrous MeOH (2 mL), the products were purified by flash chromatography [silica gel eluting with cyclohexane/EtOAc (75/25)], to give **88** (30 mg, 0.15 mmol, 44%) and (±)-**87** (25.2 mg, 0.13 mmol, 39%). *R_f* = 0.20 (75/25 cyclohexane/EtOAc); IR *v*_{max} (film, CH₂Cl₂) 3500, 2900, 1750, 1110, 775 cm⁻¹; UV (MeOH) 227 nm; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2.04 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, 2×H₅), 2.12 (s, 3H, CH₃), 2.43 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, 2×H₆), 3.21 (s, 3H, OCH₃), 6.38 (d, *J* = 10.2 Hz, 2H, 2×H₂), 6.71 (d, *J* = 10.2 Hz, 2H, 2×H₃); ¹³C

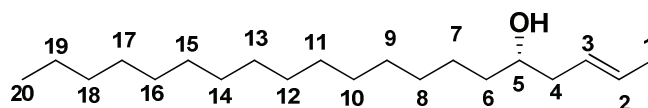
NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 30.5 (CH₂, C5), 32.8 (CH₃, C8), 37.6 (CH₂, C6), 53.5 (CH₃, OCH₃), 75.3 (C, C4), 131.9 (2×CH, C2), 150.7 (2×CH, C3), 185.1 (C, C1), 207.3 (C, C7); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 217 [M + Na]⁺ (100), 213 (25), 137 (49); **HRMS (ESI+)** m/z found 217.0835. C₁₁H₁₄O₃Na requires 217.0835.

(–)-(2*E*,5*R*)-Icos-2-en-5-ol [(+)-92]



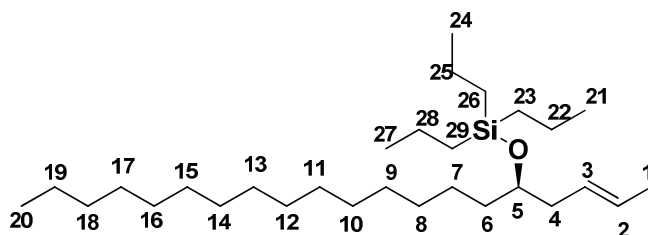
To a stirred solution of aldehyde **90** (2.0 g, 8.33 mmol) and (1*S*,2*S*,5*R*)-1-(1-methylallyl)menthol (3.5 g, 16.66 mmol) in CH₂Cl₂ (140 mL) was added *p*-TsOH (158.3 mg, 0.83 mmol). The mixture was stirred at room temperature overnight, after which time saturated aqueous NaHCO₃ (70 mL) was added, and the mixture was extracted with CH₂Cl₂ (3×70 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, and evaporated. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (98/2), to give **(+)-92** (2.0 g, 6.76 mmol, 81%). *R_f* = 0.29 (95/5 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ = +0.6 (*c* = 1.0, CHCl₃); **IR** ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 3442, 2956, 1645, 1130, 1094, 1020, 960 cm^{–1}; **UV (MeOH)** 276, 225, 208 nm; **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ ppm 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H, 3×H₂₀), 1.24–1.31 (m, 24H, 2×H₇, 2×H₈, 2×H₉, 2×H₁₀, 2×H₁₁, 2×H₁₂, 2×H₁₃, 2×H₁₄, 2×H₁₅, 2×H₁₆, 2×H₁₇, 2×H₁₈), 1.40–1.47 (m, 4H, 2×H₁₉, 2×H₆), 1.69 (dd, *J* = 6.2, 0.6 Hz, 3H, 3×H₁), 2.05 (m, 1H, 1×H_{4a}), 2.22 (m, 1H, 1×H_{4b}), 3.57 (m, 1H, 1×H₅), 5.43 (m, 1H, 1×H₃), 5.55 (dq, *J* = 15.2, 2.6 Hz, 1H, 1×H₂); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ ppm 14.3 (CH₃, C₂₀), 18.2 (CH₃, C₁), 22.9 (CH₂, C₁₉), 25.9 (CH₂, C₇), 29.6 (CH₂, C₁₇), 29.9 (9×CH₂, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃, C₁₄, C₁₅, C₁₆), 32.1 (CH₂, C₁₈), 37.0 (CH₂, C₆), 40.9 (CH₂, C₄), 71.1 (CH, C₅), 127.4 (CH, C₂), 128.8 (CH, C₃); **HRMS (ESI+)** m/z found 319.2972. C₂₀H₄₀ONa requires 319.2971.

(+)-(2*E*,5*S*)-Icos-2-en-5-ol [(–)-92]



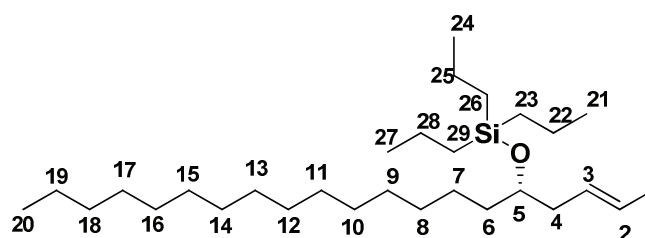
Preparation according to **(+)-92**, and starting from aldehyde **90** (2.0 g, 8.33 mmol) and (1*R*,2*R*,5*S*)-1-(1-methylallyl)menthol (3.5 g, 16.66 mmol). The product **(–)-92** was isolated after a flash chromatography on silica gel cyclohexane/EtOAc (98/2) (1.4 mg, 4.73 mmol, 57%). $[\alpha]_D^{20}$ = –0.8 (*c* = 1.0, CHCl₃); **HRMS (ESI+)** m/z found 319.2974. C₂₀H₄₀ONa requires 319.2971.

(+)-(2*E*,5*R*)-(Icos-2-en-5-yloxy)tripropylsilane [(+)-93]



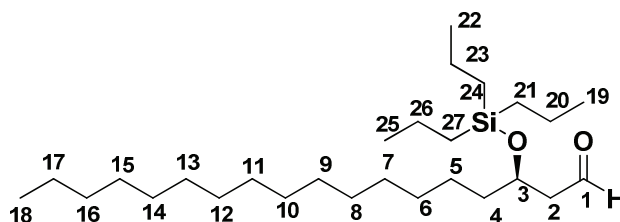
To a stirred solution of (+)-**92** (2.0 g, 6.76 mmol) in DMF (40 mL) were successively added imidazole (2.8 g, 40.56 mmol) and chlorotripropylsilane (3.9 g, 20.28 mmol). The mixture was stirred at room temperature overnight, after which time saturated aqueous NH_4Cl (20 mL) was added, and the mixture was extracted with Et_2O (3×20 mL). The combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered, and evaporated. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane, to give (+)-**93** (2.9 g, 6.41 mmol, 95%). $R_f = 0.28$ (cyclohexane); $[\alpha]_D^{20} = +5.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2950, 1202, 1052, 963 cm^{-1} ; UV (MeOH) 226 nm; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0.54–0.61 (m, 6H, $2 \times \text{H}_{23}$, $2 \times \text{H}_{26}$, $2 \times \text{H}_{29}$), 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, $3 \times \text{H}_{20}$), 0.96 (t, $J = 7.2$ Hz, 9H, $3 \times \text{H}_{21}$, $3 \times \text{H}_{24}$, $3 \times \text{H}_{27}$), 1.24–1.30 (m, 24H, $2 \times \text{H}_7$, $2 \times \text{H}_8$, $2 \times \text{H}_9$, $2 \times \text{H}_{10}$, $2 \times \text{H}_{11}$, $2 \times \text{H}_{12}$, $2 \times \text{H}_{13}$, $2 \times \text{H}_{14}$, $2 \times \text{H}_{15}$, $2 \times \text{H}_{16}$, $2 \times \text{H}_{17}$, $2 \times \text{H}_{18}$), 1.31–1.43 (m, 10H, $2 \times \text{H}_6$, $2 \times \text{H}_{19}$, $2 \times \text{H}_{22}$, $2 \times \text{H}_{25}$, $2 \times \text{H}_{28}$), 1.64 (dd, $J = 6.2, 0.6$ Hz, 3H, $3 \times \text{H}_1$), 2.05–2.17 (m, 2H, $2 \times \text{H}_4$), 3.62 (m, 1H, $1 \times \text{H}_5$), 5.35–5.48 (m, 2H, $1 \times \text{H}_2$, $1 \times \text{H}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.4 (CH_3 , C20), 17.2 ($3 \times \text{CH}_2$, C23, C26, C29), 17.5 ($3 \times \text{CH}_2$, C22, C25, C28), 18.2 (CH_3 , C1), 18.8 ($3 \times \text{CH}_3$, C21, C24, C27), 23.0 (CH_2 , C19), 25.7 (CH_2 , C7), 29.7 (CH_2 , C8), 30.1 ($9 \times \text{CH}_2$, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C16, C17), 32.3 (CH_2 , C18), 37.2 (CH_2 , C6), 41.1 (CH_2 , C4), 72.8 (CH , C5), 127.1 (CH , C2), 128.3 (CH , C3); HRMS (ESI+) m/z found 475.4306. $\text{C}_{29}\text{H}_{60}\text{ONaSi}$ requires 475.4306.

(–)-(2*E*,5*R*)-(Icos-2-en-5-yloxy)tripropylsilane [(–)-**93**]



Starting from (–)-**92** (682 mg, 2.30 mmol), the product (–)-**93** (1.0 g, 2.21 mmol, 96%) was isolated by flash chromatography on silica gel, eluting with cyclohexane. $[\alpha]_D^{20} = -4.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3); HRMS (ESI+) m/z found 475.4306. $\text{C}_{29}\text{H}_{60}\text{ONaSi}$ requires 475.4306.

(–)-(R)-3-(Tripropylsilyloxy)octadecanal [(–)-**94**]



Method C

To a stirred solution of (+)-**93** (1.1 g, 2.43 mmol) and NMO (569 mg, 4.86 mmol) in THF (12 mL) was added a solution of OsO_4 4% wt in H_2O (1.3 g, 0.24 mmol). The mixture was stirred for 2 h at room temperature, after which time saturated aqueous NaHSO_3 (10 mL) was added and the mixture was extracted with EtOAc (3×10 mL). The combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered, and evaporated. The resulting colorless oil was diluted in $\text{EtOAc}/\text{MeOH}/\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (2/2/1/1) (30 mL), the NaIO_4 (3.1 g, 14.6 mmol) was then added and the mixture was stirred for 30 min, after which time saturated aqueous NaHCO_3 (15 mL) was added and the mixture was extracted with Et_2O (3×15 mL). The combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered, and evaporated. The residue was

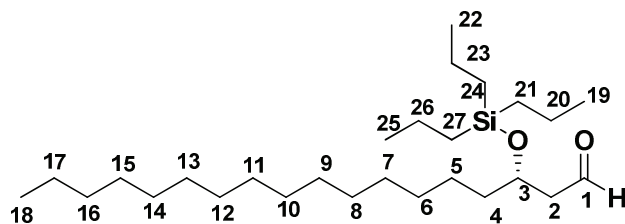
subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (95/5), to give (–)-**94** (439 mg, 1.0 mmol, 41%).

Method D

To a stirred solution of (+)-**93** (2.2 g, 4.87 mmol) in CH₂Cl₂ (65 mL) at –78°C, ozone was passed through for 90 min (lightly blue solution). The solution was then warmed to room temperature. Dimethylsulfide (3 mL) was added and the mixture was stirred for 10 min. The solution was concentrated *in vacuo* and the residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (95/5), to give (–)-**94** (739 mg, 1.68 mmol, 35%).

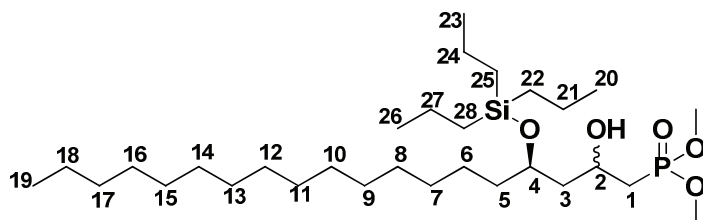
R_f = 0.36 (95/5 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ = –5.2 (c = 1.0, CHCl₃); IR ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 2955, 1733 cm^{–1}; UV (MeOH) 209 nm; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.54–0.65 (m, 6H, 2×H21, 2×H24, 2×H27), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 3H, 3×H18), 0.96 (t, J = 7.2 Hz, 9H, 3×H19, 3×H22, 3×H25), 1.22–1.36 (m, 24H, 2×H5, 2×H6, 2×H7, 2×H8, 2×H9, 2×H10, 2×H11, 2×H12, 2×H13, 2×H14, 2×H15, 2×H16), 1.36–1.50 (m, 10H, 2×H4, 2×H17, 2×H20, 2×H23, 2×H26), 2.50 (dd, J = 5.9, 2.5 Hz, 2H, 2×H2), 4.18 (q, J = 5.9 Hz, 1H, 1×H3), 9.80 (s, 1H, 1×CHO); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 14.3 (CH₃, C18), 17.0 (3×CH₂, C21, C24, C27), 17.2 (3×CH₂, C20, C23, C26), 18.7 (3×CH₃, C19, C22, C25), 22.9 (CH₂, C17), 25.4 (CH₂, C5), 29.6 (CH₂, C15), 29.8 (CH₂, C6), 29.9 (8×CH₂, C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C14), 32.2 (CH₂, C16), 38.2 (CH₂, C4), 51.1 (CH₂, C2), 68.4 (CH, C3), 202.6 (C, C1); HRMS (ESI+) m/z found 463.3941. C₂₇H₅₆O₂NaSi requires 463.3942.

(+)-(S)-3-(Tripropylsilyloxy)octadecanal [(+)-94]



Preparation according to **Method D**, starting from (–)-**93** (2.2 g, 4.87 mmol) the product (+)-**94** (858 mg, 1.95 mmol, 40%) was isolated by flash chromatography on silica gel, eluting with cyclohexane/EtOAc (95/5). $[\alpha]_D^{20}$ = +4.7 (c = 1.0, CHCl₃); HRMS (ESI+) m/z found 463.3942. C₂₇H₅₆O₂NaSi requires 463.3942.

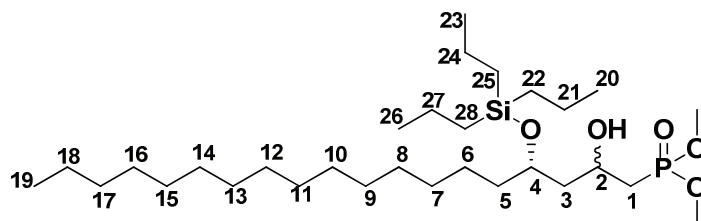
(–)-(4R)-Dimethyl-(2-hydroxy-4-tripropylsilyloxy)nonadecylphosphonate [(–)-95]



A stirred solution of dimethyl methylphosphonate (599 mg, 4.83 mmol) in dry THF (8 mL) was cooled at –78°C, and treated dropwise with *n*-BuLi 2.5 M in hexane (1.9 mL, 4.83 mmol). The reaction mixture was stirred at –78°C for 10 min, after which time a solution of (–)-**94** (710 mg, 1.61 mmol) in dry THF (4 mL) was added dropwise. The reaction mixture was stirred at –78°C for 1 h, and then allowed to warm to room temperature over 1 h, before hydrolysis with aqueous NH₄Cl (10 mL),

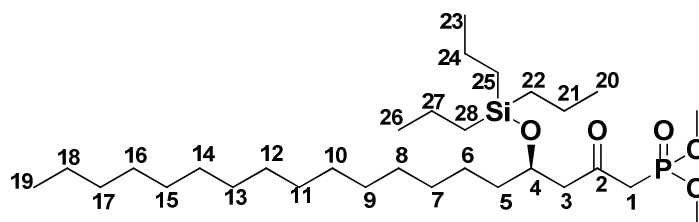
followed by extraction with Et₂O (3×10 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, and evaporated. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (60/40), to give (–)-**95** (570.6 mg, 1.01 mmol, 63%). *R*_f = 0.14 (50/50 cyclohexane/ EtOAc); [*α*]_D²⁰ = –12.8 (*c* = 1.0, CHCl₃); IR *v*_{max} (film, CH₂Cl₂) 3389, 2950, 1468, 1330, 1224, 106 cm^{–1}; UV (MeOH) 227 nm; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.56–0.66 (m, 6H, 2×H22, 2×H25, 2×H28), 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H, 3×H19), 0.96 (t, *J* = 7.2 Hz, 9H, 3×H20, 3×H23, 3×H26), 1.21–1.33 (m, 26H, 2×H6, 2×H7, 2×H8, 2×H9, 2×H10, 2×H11, 2×H12, 2×H13, 2×H14, 2×H15, 2×H16, 2×H17, 2×H18), 1.33–1.65 (m, 6H, 2×H21, 2×H24, 2×H27), 1.45–1.55 (m, 2H, 2×H5), 1.60–1.75 (m, 2H, 2×H3), 1.90–2.05 (m, 2H, 2×H1), 3.74 (s, 3H, 1×OCH₃), 3.77 (s, 3H, 1×OCH₃), 3.98 (m, 1H, 1×H4), 4.21 (m, 1H, 1×H2); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, * indicates the diastereomer, and * phosphate effect) δ 14.2 (CH₃, C19), 16.9 (3×CH₃, C20, C23, C26), 17.0, 17.2* (3×CH₂, C22, C25, C28), 18.6 (3×CH₂, C21, C24, C27), 22.8 (CH₂, C18), 24.9, 25.5* (CH₂, C17), 29.5 (CH₂, C16), 29.7 (CH₂, C7), 29.8 (8×CH₂, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15), 32.0 (CH₂, C6), 32.7, 32.9* (CH₂, C1*), 34.0, 34.2* (CH₂, C1*), 36.9, 37.7* (CH₂, C5), 43.2, 43.3* (CH₂, C3*), 44.0, 44.1* (CH₂, C3*), 52.2, 52.3* (CH₃, OCH₃), 52.4, 52.5* (CH₃, OCH₃), 63.6, 63.8* (CH, C2), 70.8, 72.3* (CH, C4); HRMS (ESI+) *m/z* found 587.4227. C₃₀H₆₅O₅NaSiP requires 587.4231.

(+)-(4*S*)-Dimethyl-(2-hydroxy-4-tripropylsilyloxy)nonadecylphosphonate [(+)-95**]**



Starting from (+)-**94** (702 mg, 1.60 mmol), the compound (+)-**95** (530 mg, 0.94 mmol, 59%) was isolated by flash chromatography on silica gel, eluting with cyclohexane/EtOAc (60/40). [*α*]_D²⁰ = +11.5 (*c* = 1.0, CHCl₃); HRMS (ESI+) *m/z* found 587.4229. C₃₀H₆₅O₅NaSiP requires 587.4231.

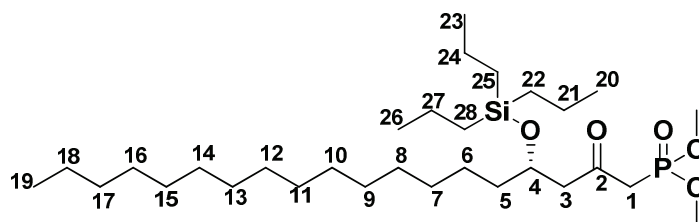
(–)-(R)-Dimethyl-2-oxo-4-(tripropylsilyloxy)nonadecylphosphonate [(–)-96**]**



To a stirred ice-cold solution of (–)-**95** (215 mg, 0.38 mmol) in dry CH₂Cl₂ (6 mL) was added the Dess-Martin reagent (242 mg, 0.57 mmol). The reaction mixture was then allowed to warm to room temperature and was further stirred for 30 min, before hydrolysis with NaOH 1N (5 mL), followed by extraction with Et₂O (3×5 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, and evaporated. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (40/60), to give (–)-**96** (210 mg, 0.37 mmol, 97%). *R*_f = 0.28 (50/50 cyclohexane/EtOAc); [*α*]_D²⁰ = –18.1 (*c* = 1.0, CHCl₃); IR *v*_{max} (film, CH₂Cl₂) 2924, 1698, 1216 cm^{–1}; UV (MeOH) 227 nm; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.55–0.61 (m, 6H, 2×H22, 2×H25, 2×H28), 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H, 3×H19), 0.95 (t, *J* = 7.2 Hz, 9H, 3×H20, 3×H23, 3×H26), 1.24–1.30 (m, 26H, 2×H6, 2×H7, 2×H8, 2×H9, 2×H10, 2×H11, 2×H12, 2×H13, 2×H14, 2×H15, 2×H16, 2×H17,

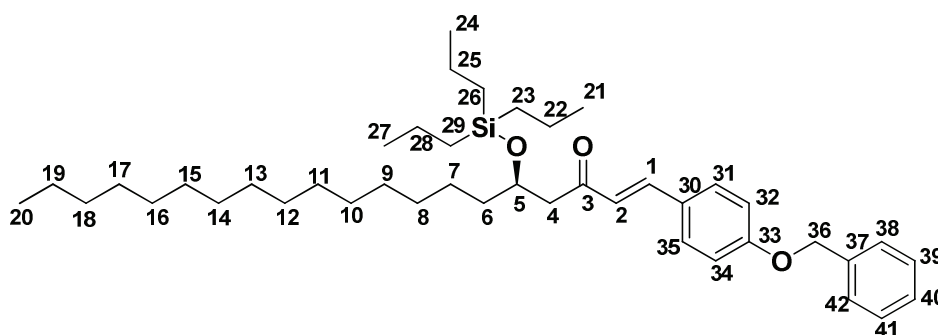
2×H18), 1.30–1.40 (m, 6H, 2×H21, 2×H24, 2×H27), 1.40–1.48 (m, 2H, 2×H5), 2.69 (dd, $J = 15.8, 5.3$ Hz, 1H, 1×H1a), 2.75 (dd, $J = 15.8, 6.7$ Hz, 1H, 1×H1b), 3.10 (m, 1H, 1×H3a), 3.16 (m, 1H, 1×H3), 3.77 (d, $J = 2.5$ Hz, 3H, 1×OCH₃), 3.80 (d, $J = 2.5$ Hz, 3H, 1×OCH₃), 4.14 (m, 1H, H4); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 14.1 (CH₃, C19), 16.8 (3×CH₂, C22, C25, C28), 16.9 (3×CH₂, C21, C24, C27), 18.4 (3×CH₃, C20, C23, C26), 22.7 (CH₂, C18), 24.9 (CH₂, C6), 29.3 (CH₂, C17), 29.5 (CH₂, C8), 29.7 (8×CH₂, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C16), 31.9 (CH₂, C7), 37.6 (CH₂, C5), 41.9, 43.2* (CH₂, C1), 51.2 (CH₂, C3), 52.8 (2×CH₃, OCH₃), 68.8 (CH, C4), 200.9, 201.0* (C, C2); HRMS (ESI+) m/z found 585.4074. C₃₀H₆₃O₅NaSiP requires 585.4075.

(+)-(S)-Dimethy-2-oxo-4-(tripropylsilyloxy)nonadecylphosphonate [(+)-96]



Starting from (+)-95 (517 mg, 0.92 mmol), the product (+)-96 (506 mg, 0.90 mmol 98%) was isolated by flash chromatography on silica gel, eluting with cyclohexane/EtOAc (50/50). $[\alpha]_D^{20} = +17.8$ ($c = 1.0$, CHCl₃); HRMS (ESI+) m/z found 585.4075. C₃₀H₆₃O₅NaSiP requires 585.4075.

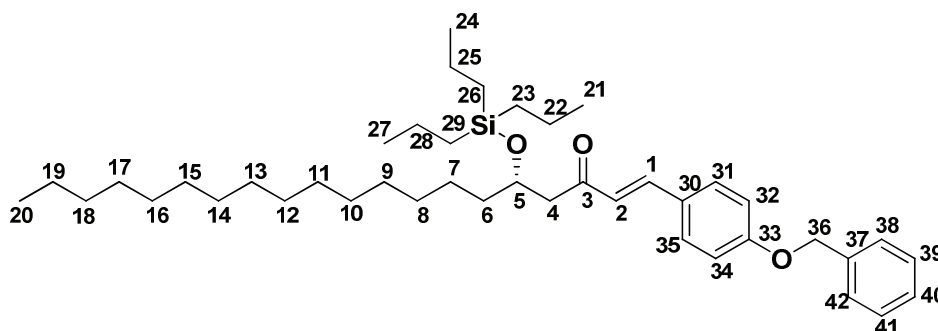
(-)-(1E,5R)-1-[4-(Benzyloxy)phenyl]-5-(tripropylsilyloxy)icos-1-en-3-one [(-)-97]



To a stirred solution of (-)-96 (323 mg, 0.57 mmol) in EtOH (5 mL) were added successively 4-(benzyloxy)benzaldehyde (121 mg, 0.57 mmol) and K₂CO₃ (157 mg, 1.14 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 h, after which time aqueous NH₄Cl (5 mL) was added, and the mixture was extracted with EtOAc (3×5 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, and evaporated. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (90/10), to give (-)-97 (292 mg, 0.46 mmol, 79%). $R_f = 0.67$ (90/10 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -8.2$ ($c = 1.0$, CHCl₃); IR ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 2929, 1685, 1654, 1605, 1512, 1171 cm⁻¹; UV (MeOH) 323, 278 nm; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.54–0.60 (m, 6H, 2×H23, 2×H26, 2×H29), 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, H20), 0.92 (t, $J = 7.2$ Hz, 9H, 3×H21, 3×H24, 3×H27), 1.23–1.30 (m, 26H, 2×H7, 2×H8, 2×H9, 2×H10, 2×H11, 2×H12, 2×H13, 2×H14, 2×H14, 2×H16, 2×H17, 2×H18, 2×H19), 1.30–1.38 (m, 6H, 2×H22, 2×H25, 2×H28), 1.46–1.52 (m, 2H, 2×H6), 2.64 (dd, $J = 14.7, 5.2$ Hz, 1H, 1×H4a), 2.84 (dd, $J = 14.7, 7.0$ Hz, 1H, 1×H4b), 4.25 (m, 1H, 1×H5), 5.07 (s, 2H, 2×H36), 6.64 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H, 1×H2), 6.97 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, 1×H32, 1×H34), 7.32 (m, 1H, 1×H40), 7.35–7.43 (m, 4H, 1×H38, 1×H39, 1×H41, 1×H42), 7.45–1.52 (m, 3H, 1×H1, 1×H31, 1×H35); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 14.3 (CH₃, C20), 17.1 (3×CH₂, C23,

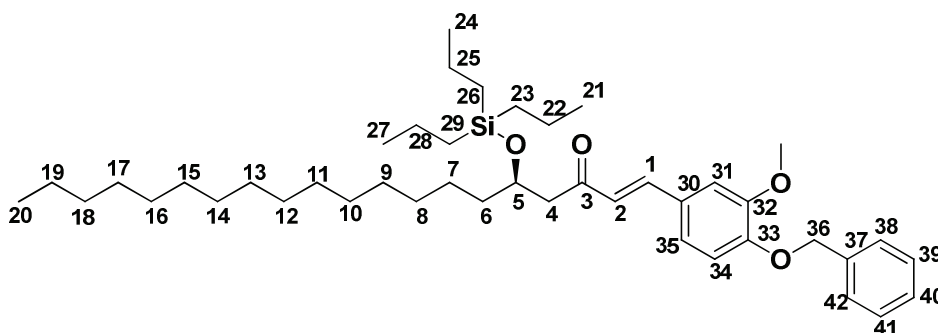
C26, C29), 17.2 (3×CH₂, C22, C25, C28), 18.7 (3×CH₃, C21, C24, C27), 22.9 (CH₂, C17), 25.4 (CH₂, C19), 29.6 (CH₂, C7), 29.8 (CH₂, C8), 29.9 (8×CH₂, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C16), 32.1 (CH₂, C18), 38.3 (CH₂, C6), 48.6 (CH₂, C4), 69.8 (CH, C5), 70.2 (CH₂, C36), 115.4 (2×CH, C32, C34), 125.4 (CH, C2), 127.6 (2×CH, C38, C42), 127.7 (C, C30), 128.3 (CH, C40), 128.8 (2×CH, C39, C41), 130.2 (2×CH, C31, C35), 136.6 (C, C37), 142.7 (CH, C1), 160.9 (C, C33), 199.4 (C, C3); **HRMS (ESI+)** m/z found 671.4823. C₄₂H₆₈O₃NaSi requires 671.4830.

(+)-(1*E*,5*S*)-1-[4-(Benzyloxy) phenyl]-5-(tripropylsilyloxy)icos-1-en-3-one [(+)-97]



Starting from (+)-**96** (473 mg, 0.84 mmol) the product (+)-**97** (421 mg, 0.65 mmol, 77%) was isolated by flash chromatography on silica gel, eluting with cyclohexane/EtOAc (90/10). $[\alpha]_D^{20} = +7.4$ ($c = 1.0$, CHCl₃); **HRMS (ESI+)** m/z found 671.4823. C₄₂H₆₈O₃NaSi requires 671.4830.

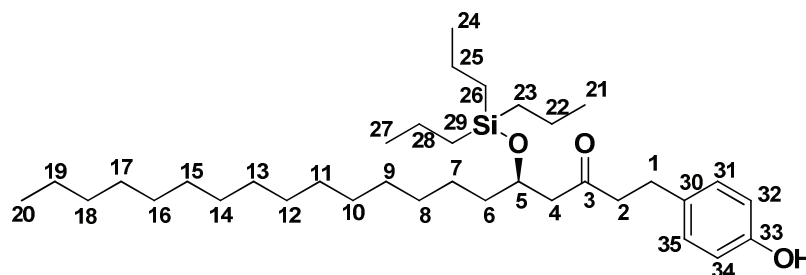
(-)-(1*E*,5*R*)-1-[4-(Benzyloxy-3-methoxy)phenyl]-5-(tripropylsilyloxy)icos-1-en-3-one [(-)-101]



To a stirred solution of (-)-**96** (74 mg, 0.13 mmol) in EtOH (5 mL) were added successively 4-benzyloxy-3-methoxybenzaldehyde (32 mg, 0.13 mmol) and K₂CO₃ (36 mg, 0.26 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 h, after which time aqueous NH₄Cl (5 mL) was added, and the mixture was extracted with EtOAc (3×5 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, and evaporated. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (90/10), to give (-)-**101** (76 mg, 0.11 mmol, 85%). $R_f = 0.60$ (90/10 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -7.0$ ($c = 1.0$, CHCl₃); **IR** ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 2926, 1613, 1654, 1579, 1444 cm⁻¹; **UV (MeOH)** 323, 237, 205 nm; **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ ppm 0.53–0.60 (m, 6H, 2×H23, 2×H26, 2×H29), 0.90 (dt, $J = 7.2, 6.8$ Hz, 12H, 3×H20, 3×H21, 3×H24, 3×H27), 1.24–1.28 (m, 22H, 2×H8, 2×H9, 2×H10, 2×H11, 2×H12, 2×H13, 2×H14, 2×H14, 2×H16, 2×H17, 2×H18), 1.29–1.40 (m, 10H, 2×H7, 2×H19, 2×H22, 2×H25, 2×H28), 1.46–1.53 (m, 2H, 2×H6), 2.65 (dd, $J = 14.7, 7.0$ Hz, 1H, 1×H4a), 2.86 (dd, $J = 14.7, 7.0$ Hz, 1H, 1×H4b), 3.93 (s, 3H, 1×OCH₃), 4.24 (m, 1H,

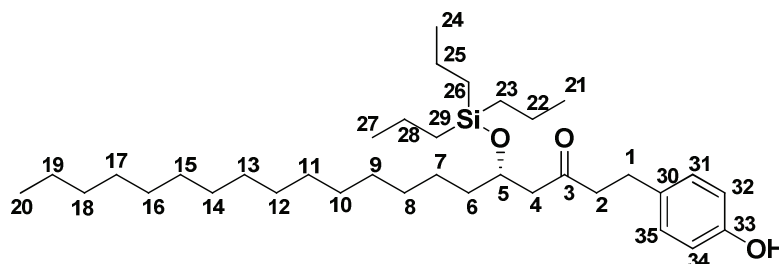
1×H5), 5.19 (s, 1H, 1×H36), 6.63 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H, 1×H2), 6.88 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 1×H34), 7.03–7.11 (m, 2H, 1×H31, 1×H35), 7.29 (m, 1H, 1×H40), 7.37 (m, 2H, 1×H38, 1×H42), 7.40–7.49 (m, 3H, 1×H1, 1×H39, 1×H41); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.3 (CH_3 , C20), 17.1 ($3\times\text{CH}_2$, C23, C26, C29), 17.2 ($3\times\text{CH}_2$, C22, C25, C28), 18.7 ($3\times\text{CH}_3$, C21, C24, C27), 22.9 (CH_2 , C19), 25.4 (CH_2 , C7), 29.6 (CH_2 , C8), 29.8 (CH_2 , C8), 29.9 ($9\times\text{CH}_2$, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C16, C17), 32.1 (CH_2 , C18), 38.3 (CH_2 , C6), 48.5 (CH_2 , C4), 56.1 (CH_3 , OCH_3), 69.9 (CH , C5), 71.0 (CH_2 , C36), 110.4 (CH , C31), 113.5 (CH , C34), 123.0 (CH , C35), 125.6 (CH , C2), 127.4 ($2\times\text{CH}$, C38, C42), 128.0 (C, C30), 128.2 (CH , C40), 128.8 ($2\times\text{CH}$, C39, C41), 136.7 (C, C37), 143.1 (CH , C1), 149.9 (C, C32), 150.6 (C, C33), 199.7 (C, C3); **HRMS (ESI+)** m/z found 731.5048. $\text{C}_{44}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{NaSi}$ requires 731.5047.

(–)-(R)-1-(4-Hydroxyphenyl)-5-(tripropylsilyloxy)-icosan-3-one [(–)-98]



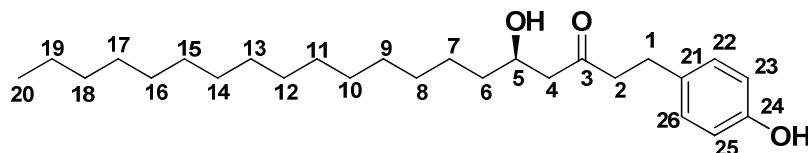
To a stirred solution of (–)-**97** (253 mg, 0.39 mmol) in EtOAc (5 mL) was added 10% Pd/C (37 mg, 0.04 mmol). The reaction mixture was then stirred at room temperature under H_2 atmosphere for 3 h, after which time the reaction mixture was filtrated on celite and the solution was concentrated *in vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (90/10), to give (–)-**98** (137 mg, 0.25 mmol, 64%). $R_f = 0.25$ (90/10 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -12.8$ ($c = 1.0$, CHCl_3); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3993, 2924, 1702, 1605, 1512, 1047 cm^{-1} ; **UV (MeOH)** 224, 278 nm; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0.53–0.60 (m, 6H, $2\times\text{H}23$, $2\times\text{H}26$, $2\times\text{H}29$), 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, $3\times\text{H}20$), 0.95 (t, $J = 7.2$ Hz, 9H, $3\times\text{H}21$, $3\times\text{H}24$, $3\times\text{H}27$), 1.23–1.28 (m, 22H, $2\times\text{H}8$, $2\times\text{H}9$, $2\times\text{H}10$, $2\times\text{H}11$, $2\times\text{H}12$, $2\times\text{H}13$, $2\times\text{H}14$, $2\times\text{H}15$, $2\times\text{H}16$, $2\times\text{H}17$, $2\times\text{H}18$), 1.29–1.37 (m, 10H, $2\times\text{H}7$, $2\times\text{H}19$, $2\times\text{H}22$, $2\times\text{H}25$, $2\times\text{H}28$), 1.38–1.44 (m, 2H, $2\times\text{H}6$), 2.44 (dd, $J = 15.1$, 4.9 Hz, 1H, 1×H4a), 2.58 (dd, $J = 15.1$, 7.2 Hz, 1H, 1×H4b), 2.73 (m, 2H, $2\times\text{H}2$), 2.79 (m, 2H, $2\times\text{H}1$), 4.16 (m, 1H, 1×H5), 6.75 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, 1×H32, 1×H34), 7.01 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, 1×H31, 1×H35); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.3 (CH_3 , C20), 17.0 ($3\times\text{CH}_2$, C23, C26, C29), 17.2 ($3\times\text{CH}_2$, C22, C25, C28), 18.7 ($3\times\text{CH}_3$, C21, C24, C27), 22.9 (CH_2 , C19), 25.3 (CH_2 , C7), 28.8 (CH_2 , C8), 29.6 (CH_2 , C1), 29.8 (CH_2 , C17), 29.9 ($8\times\text{CH}_2$, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C16), 32.1 (CH_2 , C19), 38.0 (CH_2 , C6), 46.7 (CH_2 , C2), 50.5 (CH_2 , C2), 69.4 (CH , C5), 115.6 ($2\times\text{CH}$, C32, C34), 129.5 ($2\times\text{CH}$, C31, C35), 132.9 (C, C30), 154.4 (C, C33), 210.6 (C, C3); **HRMS (ESI+)** m/z found 583.4516. $\text{C}_{35}\text{H}_{64}\text{O}_3\text{SiNa}$ requires 583.4522.

(+)-(S)-1-(4-Hydroxyphenyl)-5-(tripropylsilyloxy)-icosan-3-one [(+)-98]



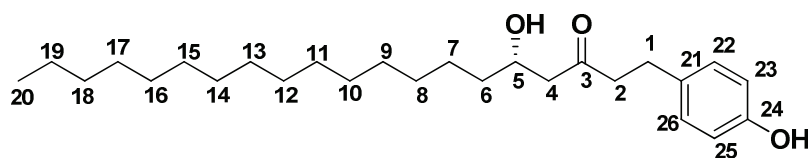
Starting from (+)-**97** (393 mg, 0.61 mmol), the product (+)-**98** (230 mg, 0.41 mmol, 67%) was isolated by flash chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (90/10). $[\alpha]_D^{20} = +11.7$ ($c = 1.0$, CHCl_3); **HRMS** (ESI+) m/z found 583.4227. $\text{C}_{30}\text{H}_{60}\text{O}_5\text{Na}$ requires 583.4236.

(-)-(R)-5-Hydroxy-1-(4-hydroxyphenyl)icosan-3-one [(-)-78]



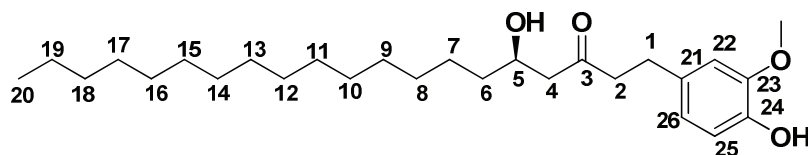
To a stirred solution (-)-**98** (103 mg, 0.18 mmol) in THF (3 mL) was added a solution of TBAF 1 M in THF (0.2 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min, after which time the mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (75/25), to give (-)-**78** (60 mg, 0.15 mmol, 83%). $R_f = 0.2$ (75/25 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -18.8$ ($c = 1.0$, CHCl_3); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3375, 2915, 1689, 1516, 1459, 1260 cm^{-1} ; **UV** (MeOH) 224 nm; ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, $3 \times \text{H}_{20}$), 1.25 (s, 24H, $2 \times \text{H}_7$, $2 \times \text{H}_8$, $2 \times \text{H}_9$, $2 \times \text{H}_{10}$, $2 \times \text{H}_{11}$, $2 \times \text{H}_{12}$, $2 \times \text{H}_{13}$, $2 \times \text{H}_{14}$, $2 \times \text{H}_{15}$, $2 \times \text{H}_{16}$, $2 \times \text{H}_{17}$, $2 \times \text{H}_{18}$), 1.33–1.41 (m, 2H, $2 \times \text{H}_{19}$), 1.44–1.53 (m, 2H, $2 \times \text{H}_6$), 2.48 (dd, $J = 17.5$, 8.9 Hz, 1H, $1 \times \text{H}_{4a}$), 2.57 (dd, $J = 17.5$, 2.9 Hz, 1H, $1 \times \text{H}_{4b}$), 2.72 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, $2 \times \text{H}_1$), 2.83 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, $2 \times \text{H}_2$), 4.03 (m, 1H, $1 \times \text{H}_5$), 6.74 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, $1 \times \text{H}_{23}$, $1 \times \text{H}_{25}$), 7.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, $1 \times \text{H}_{22}$, $1 \times \text{H}_{26}$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.3 (CH_3 , C20), 22.9 (CH_2 , C19), 25.7 (CH_2 , C7), 28.9 (CH_2 , C17), 29.6 (CH_2 , C8), 29.7 (CH_2 , C18), 29.8 (CH_2 , C9), 29.9 ($7 \times \text{CH}_2$, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C16), 32.1 (CH_2 , C1), 36.6 (CH_2 , C6), 45.5 (CH_2 , C2), 49.4 (CH_2 , C4), 68.0 (CH, C5), 115.6 ($2 \times \text{CH}$, C23, C25), 129.6 ($2 \times \text{CH}$, C22, C26), 132.8 (C, C21), 154.4 (C, C24), 212.0 (C, C3); **HRMS** (ESI+) m/z found 427.3182. $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_3\text{Na}$ requires 427.3182.

(+)-(S)-5-Hydroxy-1-(4-hydroxyphenyl)icosan-3-one [(+)-78]



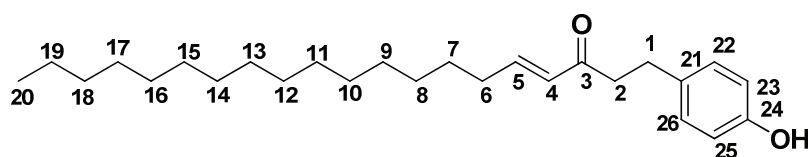
Starting from (+)-**98** (206 mg, 0.37 mmol), the compound (+)-**78** (141 mg, 0.35 mmol, 95%) was isolated by flash chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (75/25). $[\alpha]_D^{20} = +19.2$ ($c = 1.0$, CHCl_3); **HRMS** (ESI+) m/z found 427.3184. $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_3\text{Na}$ requires 427.3183.

(-)-(R)-5-Hydroxy-1-[(4-hydroxy-3-methoxy)phenyl]icosan-3-one [(-)-102]



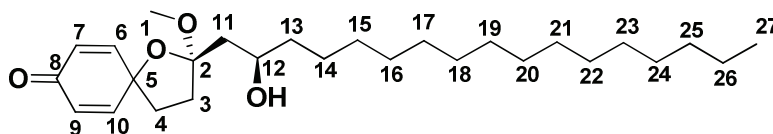
To a stirred solution of (–)-**101** (58 mg, 0.08 mmol) in EtOAc (5 mL) was added 10% Pd/C (16 mg, 0.02 mmol). The reaction mixture was then stirred at room temperature under H₂ atmosphere for 3 h, after which time the reaction mixture was filtrated on celite and the solution was concentrated *in vacuo*. Then, the residue was diluted in THF (3 mL) and a solution of TBAF 1 M in THF (0.2 mL) was added at room temperature. The reaction mixture was stirred for 30 min, after which time the mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (70/30), to give (–)-**102** (26 mg, 0.06 mmol, 75%). *R*_f = 0.18 (70/30 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -16.9$ (*c* = 1.0, CHCl₃); IR *v*_{max} (film, CH₂Cl₂) 3375, 2920, 1689, 1579, 1459, 1260 cm⁻¹; UV (MeOH) 236, 322 nm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H, 3×H20), 1.24–1.28 (m, 24H, 2×H7, 2×H8, 2×H9, 2×H10, 2×H11, 2×H12, 2×H13, 2×H14, 2×H15, 2×H16, 2×H17, 2×H18,), 1.44–1.53 (m, 4H, 2×H6, 2×H19), 2.48 (dd, *J* = 7.5, 8.9 Hz, 1H, 1×H4a), 2.57 (dd, *J* = 7.5, 2.9 Hz, 1H, 1×H4b), 2.73 (t, *J* = 11.1 Hz, 2H, 2×H2), 2.84 (t, *J* = 11.1 Hz, 2H, 2×H1), 2.98 (m, 1H, OH), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 4.03 (m, 1H, 1×H5), 6.64 (m, 1H, 1×H26), 6.68 (m, 1H, 1×H22), 6.82 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, 1×H25); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 14.3 (CH₃, C20), 22.9 (CH₂, C19), 25.7 (CH₂, C7), 29.5 (CH₂, C17), 29.6 (CH₂, C1), 29.8 (CH₂, C8), 29.9 (8×CH₂, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C16), 32.1 (CH₂, C18), 36.7 (CH₂, C6), 45.6 (CH₂, C2), 49.5 (CH₂, C4), 56.1 (CH₃, OCH₃), 67.9 (CH, C5), 111.2 (CH, C22), 114.6 (CH, C25), 120.9 (CH, C26), 132.8 (C, C21), 143.9 (C, C24), 146.6 (C, C23), 211.7 (C, C3); HRMS (ESI+) *m/z* found 457.3287. C₂₇H₄₆O₄Na requires 457.3288.

(*E*)-1-(4-Hydroxyphenyl)icos-4-en-3-one (**105**)



To a solution of 4-(4-hydroxyphenyl)butan-2-one (1.0 g, 6.09 mmol) in DIMCARB ration carbone dioxide/dimethylamine <0.2/1 (6 mL) was added aldehyde **90** (4.4 g, 18.33 mmol) portionwise (3×1 equiv) every 3 h at 25°C. Stirring was continued for 48 h. The solvent mixture was acidified with HCl 1N (10 mL) and extracted with CH₂Cl₂ (3×10 mL). The combined organic fraction was dried with MgSO₄, filtrated, and the solvent removed *in vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (90/10), to give **105** (1.2 g, 3.11 mmol, 51%). *R*_f = 0.23 (85/15 cyclohexane/EtOAc); IR *v*_{max} (film, CH₂Cl₂) 3407, 2621, 1691, 1623, 1086 cm⁻¹; UV (MeOH) 278, 224 nm; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H, 3×H20), 1.25–1.30 (m, 24H, 2×H8, 2×H9, 2×H10, 2×H11, 2×H12, 2×H13, 2×H14, 2×H15, 2×H16, 2×H17, 2×H18, 2×H19), 1.42 (m, 2H, 2×H7), 2.18 (m, 2H, 2×H6), 2.82–2.88 (m, 4H, 2×H1, 2×H2), 6.10 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H, 1×H4), 6.75 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 1×H23, 1×H25), 6.84 (dt, *J* = 15.9, 6.9 Hz, 1H, 1×H5), 7.03 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 1×H22, 1×H26); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 14.3 (CH₃, C20), 22.9 (CH₂, C19), 28.2 (CH₂, C8), 29.4 (CH₂, C17), 29.6 (CH₂, C7), 29.7 (CH₂, C16), 29.9 (7×CH₂, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15), 31.1 (CH₂, C1), 32.8 (CH₂, C18), 42.1 (CH₂, C6), 115.6 (2×CH, C23, C25), 129.6 (2×CH, C22, C26), 130.3 (CH, C4), 133.0 (C, C21), 148.9 (CH, C5), 154.4 (C, C24), 201.0 (C, C3); HRMS (ESI+) *m/z* found 409.3078. C₂₆H₄₂O₂Na requires 409.30877.

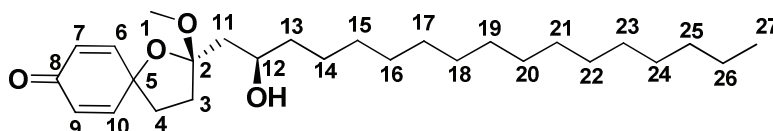
(-)-(2*R*,12*S*)-(2-Hydroxyheptadecyl)-2-methoxy-1-oxaspiro [4.5] deca-6,9-dien-8-one [(-)-amomol A]



According to **Method A**, and starting from (-)-**78** (48 mg, 0.120 mmol), the (-)-**amomol A** (8 mg, 0.018 mmol, 15%) and the (+)-**amomol B** (11 mg, 0.025 mmol, 21%) were isolated after flash chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (80/20).

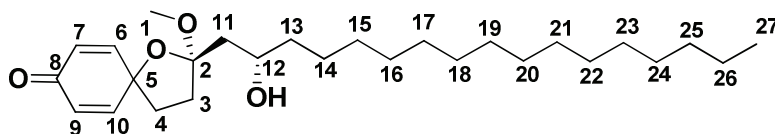
(-)-**amomol A** (natural): $R_f = 0.36$ (75/25 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -11.1$ ($c = 0.6$, CHCl_3); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2915, 1671, 1636, 1560, 1167 cm^{-1} ; **UV** (MeOH) 230 nm; ^1H **NMR** (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0.89 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, $3\times\text{H}_{27}$), 1.22–1.34 (m, 24H, $2\times\text{H}_{15}$, $2\times\text{H}_{16}$, $2\times\text{H}_{17}$, $2\times\text{H}_{18}$, $2\times\text{H}_{19}$, $2\times\text{H}_{20}$, $2\times\text{H}_{21}$, $2\times\text{H}_{22}$, $2\times\text{H}_{23}$, $2\times\text{H}_{24}$, $2\times\text{H}_{25}$, $2\times\text{H}_{26}$), 1.35–1.47 (m, 3H, $1\times\text{H}_{13a}$, $2\times\text{H}_{14}$), 1.52 (m, 1H, $1\times\text{H}_{13b}$), 1.69 (dd, $J = 14.7$, 1.8 Hz, 1H, $1\times\text{H}_{11a}$), 2.07 (m, 1H, $1\times\text{H}_{4a}$), 2.13 (m, 1H, $1\times\text{H}_{3a}$), 2.15 (m, 1H, $1\times\text{H}_{11b}$), 2.34 (m, 1H, $1\times\text{H}_{3b}$), 2.39 (m, 1H, $1\times\text{H}_{4b}$), 3.01 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, OH), 3.35 (s, 3H, OCH_3), 3.85 (m, 1H, $1\times\text{H}_{12}$), 6.12 (dd, $J = 10.0$, 2.0 Hz, 1H, $1\times\text{H}_7$), 6.17 (dd, $J = 10.0$, 2.0 Hz, 1H, $1\times\text{H}_9$), 6.78 (dd, $J = 10.0$, 3.0 Hz, 1H, $1\times\text{H}_6$), 6.84 (dd, $J = 10.0$, 3.0 Hz, 1H, $1\times\text{H}_{10}$); ^{13}C **NMR** (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.3 (CH_3 , C27), 22.9 (CH_2 , C26), 25.7 (CH_2 , C14), 29.6 (CH_2 , C15), 29.9 ($9\times\text{CH}_2$, C16, C17, C18, C19, C20, C21, C22, C23, C24), 32.1 (CH_2 , C25), 35.1 (CH_2 , C4), 37.0 (CH_2 , C3), 38.0 (CH_2 , C13), 40.9 (CH_2 , C11), 49.2 (CH_3 , OCH_3), 69.3 (CH , C12), 79.3 (C, C5), 111.8 (C, C2), 127.9 (CH , C7), 148.6 (CH , C6), 150.6 (CH , C10), 185.5 (C, C8); **HRMS** (ESI+) m/z found 457.3285. $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_4\text{Na}$ requires 457.3288.

(+)-(2*S*,12*S*)-(2-Hydroxyheptadecyl)-2-methoxy-1-oxaspiro [4.5] deca-6,9-dien-8-one [(+)-amomol B]



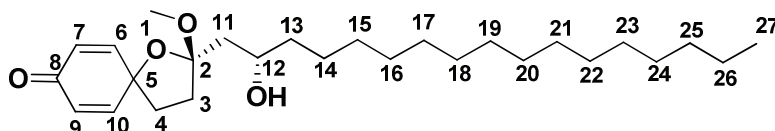
(+)-**amomol B**: $R_f = 0.36$ (75/25 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = +8.9$ ($c = 0.6$, CH_3Cl); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2915, 1671, 1636, 1560, 1167 cm^{-1} ; **UV** (MeOH) 230 nm; ^1H **NMR** (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, $3\times\text{H}_{27}$), 1.22–1.35 (m, 25H, $1\times\text{H}_{13a}$, $2\times\text{H}_{15}$, $2\times\text{H}_{16}$, $2\times\text{H}_{17}$, $2\times\text{H}_{18}$, $2\times\text{H}_{19}$, $2\times\text{H}_{20}$, $2\times\text{H}_{21}$, $2\times\text{H}_{22}$, $2\times\text{H}_{23}$, $2\times\text{H}_{24}$, $2\times\text{H}_{25}$, $2\times\text{H}_{26}$), 1.43 (m, 2H, $2\times\text{H}_{14}$), 1.53 (m, 1H, $1\times\text{H}_{13b}$), 1.96 (m, 2H, $2\times\text{H}_{11}$), 2.06 (m, 1H, $1\times\text{H}_{4a}$), 2.24 (m, 2H, $2\times\text{H}_3$), 2.42 (m, 1H, $1\times\text{H}_{4b}$), 2.68 (s, 1H, OH), 3.31 (s, 3H, $1\times\text{OCH}_3$), 3.79 (m, 1H, $1\times\text{H}_{12}$), 6.13 (dd, $J = 10.0$, 2.0 Hz, 1H, $1\times\text{H}_7$), 6.17 (dd, $J = 10.0$, 2.0 Hz, 1H, $1\times\text{H}_9$), 6.81 (dd, $J = 10.0$, 3.0 Hz, 1H, $1\times\text{H}_6$), 6.85 (dd, $J = 10.0$, 3.0 Hz, 1H, $1\times\text{H}_{10}$); ^{13}C **NMR** (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.3 (CH_3 , C27), 22.9 (CH_2 , C26), 25.8 (CH_2 , C14), 29.6 (CH_2 , C15), 29.8 (CH_2 , C24), 29.9 ($8\times\text{CH}_2$, C16, C17, C18, C19, C20, C21, C22, C23), 32.1 (CH_2 , C25), 35.3 (CH_2 , C4), 36.9 (CH_2 , C3), 38.0 (CH_2 , C13), 40.3 (CH_2 , C11), 48.8 (CH_3 , OCH_3), 68.4 (CH , C12), 78.9 (C, C5), 111.8 (C, C2), 127.6 (CH , C7), 127.7 (CH , C9), 148.4 (CH , C6), 150.8 (CH , C10), 185.5 (C, C8); **HRMS** (ESI+) m/z found 457.3286. $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_4\text{Na}$ requires 457.3288.

(+)-(2*R*, 12*R*)-(2-Hydroxyheptadecyl)-2-methoxy-1-oxaspiro [4.5] deca-6,9-dien-8-one [(+)-amomol A]



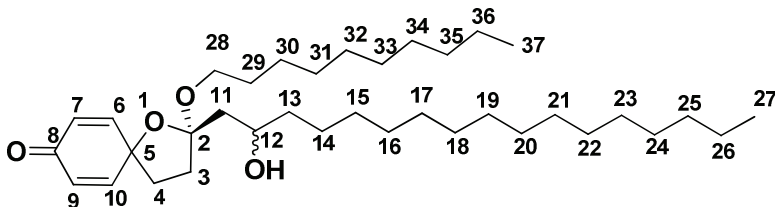
Starting from (+)-**78** (54 mg, 0.133 mmol), the (+)-**amomol A** (6 mg, 0.014 mmol, 11%) and (–)-**amomol B** (14 mg, 0.033 mmol, 25%) were isolated after flash chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (80/20). $[\alpha]_D^{20} = +10.9$ ($c = 0.4$, CHCl_3); **HRMS (ESI+)** m/z found 457.3288. $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_4\text{Na}$ requires 457.3288.

(–)-(2*S*,12*R*)-(2-Hydroxyheptadecyl)-2-methoxy-1-oxaspiro [4.5] deca-6,9-dien-8-one [(–)-amomol B]



(–)-**amomol B** (non natural): $[\alpha]_D^{20} = -8.2$ ($c = 0.5$, CHCl_3); **HRMS (ESI+)** m/z found 457.3286. $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_4\text{Na}$ requires 457.3288.

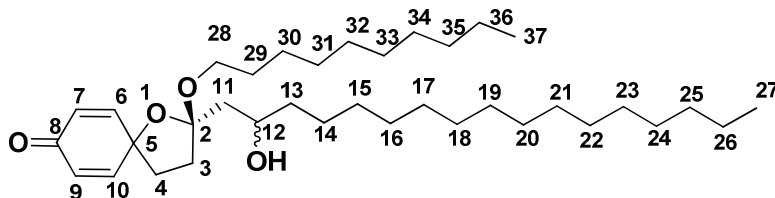
(±)-(2*R*)-(Hydroxyheptadecyl)-2-nonyloxy-1-oxaspiro [4.5] deca-6,9-dien-8-one [(±)-100a]



According to method A and starting from (±)-**78** (37 mg, 0.091 mmol) and decanol (71 mg, 0.45 mmol) in CH_2Cl_2 (1.5 mL), the products (±)-**100a** (11 mg, 0.019 mmol, 21%), and (±)-**100b** (11.7 mg, 0.021 mmol, 23%) were obtained after flash chromatography [silica gel eluting with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}$ (94/6)]. $R_f = 0.32$ (96/4 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}$); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3497, 2929, 1679, 1625 cm^{-1} ; **UV (MeOH)** 225 nm; ^1H **NMR (400 MHz, CDCl_3)** δ ppm 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 6H, 3×H27, 3×H37), 1.23–1.40 (m, 40H, 2×H14, 2×H15, 2×H16, 2×H17, 2×H18, 2×H19, 2×H20, 2×H21, 2×H22, 2×H23, 2×H24, 2×H25, 2×H26, 2×H30, 2×H31, 2×H32, 2×H33, 2×H34, 2×H35, 2×H36), 1.41–1.54 (m, 4H, 2×H13, 2×H29), 1.69 (m, 1H, 1×H11a), 2.05 (m, 1H, 1×H4a), 2.10–2.20 (m, 2H, 1×H3a, 1×H11b), 2.32–2.44 (m, 2H, 1×H3b, 1×H4b), 3.17 (s, 1H, OH), 3.56 (m, 2H, 2×H28), 3.83 (m, 1H, 1×H12), 6.12 (dd, $J = 10.0, 2.0$ Hz, 1H, 1×H7), 6.17 (dd, $J = 10.0, 2.0$ Hz, 1H, 1×H9), 6.78 (dd, $J = 10.0, 3.0$ Hz, 1H, 1×H6), 6.82 (dd, $J = 10.0, 3.0$ Hz, 1H, 1×H10); ^{13}C **NMR (100 MHz, CDCl_3)** δ ppm 14.3 (2×CH₃, C27, C37), 22.5 (2×CH₂, C26, C36), 25.8 (CH₂, C14), 26.5 (CH₂, C30), 29.5 (CH₂, C24), 29.6 (CH₂, C33), 29.7 (CH₂, C16), 29.8 (CH₂, C34), 29.9 (8×CH₂, C16, C17, C18, C19, C20, C21, C22, C31, C32), 30.3 (CH₂, C23), 32.0 (2×CH₂, C15, C29), 32.1 (2×CH₂, C25, C35), 35.3 (CH₂, C3), 37.0 (CH₂, C13), 37.9 (CH₂, C4), 41.8 (CH₂, C11), 61.6 (CH₂, C28), 69.3 (CH, C12), 79.2 (C, C5),

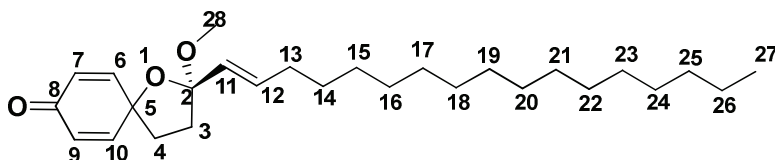
111.7 (C, C2), 127.3 (CH, C7), 128.0 (CH, C9), 148.7 (CH, C6), 150.6 (CH, C10), 185.5 (C, C8); **HRMS (ESI+)** m/z found 583.4697. $C_{36}H_{64}O_4Na$ requires 583.4697.

(±)-(2S)-(Hydroxyheptadecyl)-2-nonyloxy-1-oxaspiro [4.5] deca-6, 9-dien-8-one [(±)-100b]



R_f = 0.30 (96/4 CH_2Cl_2/Et_2O); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3497, 2929, 1679, 1625 cm^{-1} ; **UV (MeOH)** 225 nm; **1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H, 3 \times H27, 3 \times H37), 1.24–1.36 (m, 40H, 2 \times H15, 2 \times H16, 2 \times H17, 2 \times H18, 2 \times H19, 2 \times H20, 2 \times H21, 2 \times H22, 2 \times H23, 2 \times H24, 2 \times H25, 2 \times H26, 2 \times H29, 2 \times H30, 2 \times H31, 2 \times H32, 2 \times H33, 2 \times H34, 2 \times H35, 2 \times H36), 1.37–1.45 (m, 2H, 2 \times H14), 1.48–1.62 (m, 2H, 2 \times H13), 1.92–2.00 (m, 2H, 2 \times H11), 2.04 (m, 1H, 1 \times H4a), 2.20–2.27 (m, 2H, 2 \times H3), 2.42 (m, 1H, 1 \times H4b), 3.43 (m, 1H, 1 \times H28a), 3.56 (m, 1H, 1 \times H28b), 3.80 (m, 1H, 1 \times H12), 6.13 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H, 1 \times H7), 6.16 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H, 1 \times H9), 6.80 (dd, J = 10.0, 3.0 Hz, 1H, 1 \times H6), 6.85 (dd, J = 10.0, 3.0 Hz, 1H, 1 \times H10); **^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 14.3 (2 \times CH₃, C27, C37), 22.9 (2 \times CH₂, C26, C36), 25.8 (CH₂, C14), 26.5 (CH₂, C30), 29.6 (CH₂, C24), 29.7 (CH₂, C33), 29.8 (CH₂, C34), 29.9 (8 \times CH₂, C16, C17, C18, C19, C20, C21, C22, C23, C31, C32), 30.3 (2 \times CH₂, C15, C29), 32.1 (2 \times CH₂, C25, C35), 35.5 (CH₂, C3), 36.9 (CH₂, C13), 38.0 (CH₂, C4), 41.3 (CH₂, C11), 61.3 (CH₂, C28), 68.5 (CH, C12), 78.9 (C, C5), 111.8 (C, C2), 127.6 (CH, C7), 127.8 (CH, C9), 148.5 (CH, C6), 150.9 (CH, C10), 185.5 (C, C8); **HRMS (ESI+)** m/z found 583.4697. $C_{36}H_{64}O_4Na$ requires 583.4697.

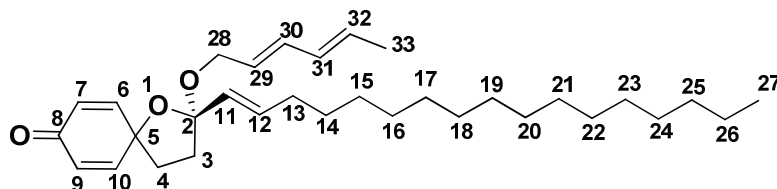
(±)-[(E)-Heptadec-1-enyl]-2-methoxy-1-oxaspiro [4.5] deca-6,9-dien-8-one [(±)-108]



According to **Method A** and starting from **105** (105 mg, 0.27 mmol) and MeOH (86 mg, 2.7 mmol) in CH_2Cl_2 (2.5 mL), the product **(±)-108** (47 mg, 0.11 mmol, 41%) was obtained after flash chromatography [silica gel eluting with cyclohexane/EtOAc (90/10)]. R_f = 0.31 (85/15 cyclohexane/EtOAc); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2920, 1680, 1631, 1463 cm^{-1} ; **UV (MeOH)** 225 nm; **1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 3H, 3 \times H27), 1.23–1.32 (m, 22H, 2 \times H15, 2 \times H16, 2 \times H17, 2 \times H18, 2 \times H19, 2 \times H20, 2 \times H22, 2 \times H23, 2 \times H24, 2 \times H25, 2 \times H26), 1.40 (m, 2H, 2 \times H14), 2.00–2.14 (m, 4H, 2 \times H3, 2 \times H13), 2.29 (m, 1H, 1 \times H4a), 2.40 (m, 1H, 1 \times H4b), 3.24 (s, 3H, 3 \times H28), 5.51 (dt, J = 15.6, 1.1 Hz, 1H, H11), 5.93 (dt, J = 15.6, 6.7 Hz, 1H, 1 \times H12), 6.13 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H, 1 \times H7), 6.16 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H, 1 \times H9), 6.88 (dd, J = 10.0, 3.0 Hz, 1H, 1 \times H6), 6.91 (dd, J = 10.0, 3.0 Hz, 1H, H10); **^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 14.3 (CH₃, C27), 22.9 (CH₂, C26), 29.1 (CH₂, C15), 29.4 (CH₂, C24), 29.6 (2 \times CH₂, C14, C23), 29.9 (6 \times CH₂, C16, C17, C18, C19, C20, C21), 32.1 (2 \times CH₂, C13, C22), 32.2 (CH₂, C25), 35.3 (CH₂, C4), 39.5 (CH₂, C3), 49.8 (CH₃, OCH₃), 78.9 (C, C5), 110.2 (C, C2), 127.2 (CH, C7), 127.5 (CH, C9), 128.0 (CH, C12), 134.5 (CH, C11), 149.2

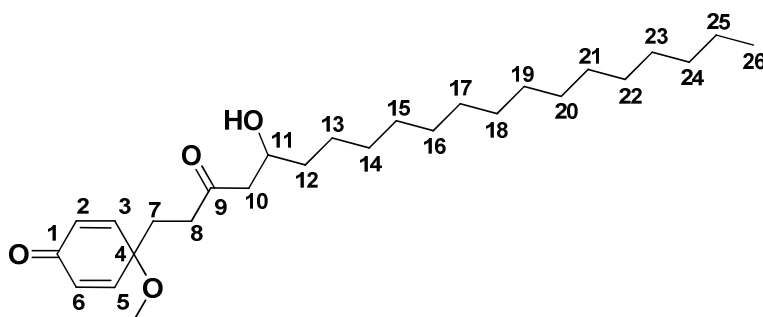
(CH, C6), 151.5 (CH, C10), 185.7 (C, C8); **HRMS (ESI+)** m/z found 439.3179. $C_{27}H_{44}O_3Na$ requires 439.3183.

(±)-[(*E*)-Heptadec-1-enyl]-2-((*2E,4E*)-hexa-2,4-dienyloxy)-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-dien-8-one[(±)-107]



According to **Method A** and starting from **105** (50 mg, 0.013 mmol) and (*2E,4E*)-hexa-2,4-dien-1-ol (64 mg, 0.65 mmol) in CH_2Cl_2 (1.5 mL), the product **(±)-107** (22 mg, 0.05 mmol, 38%) was obtained after flash chromatography [silica gel eluting with cyclohexane/EtOAc (90/10)]. R_f = 0.17 (90/10 cyclohexane/EtOAc); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2924, 1671, 1631, 1463 cm^{-1} ; **UV (MeOH)** 226 nm; **1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 3H, 3×H27), 1.22–1.33 (m, 24H, 2×H15, 2×H16, 2×H17, 2×H18, 2×H19, 2×H20, 2×H21, 2×H22, 2×H23, 2×H24, 2×H25, 2×H26), 1.39 (m, 2H, 2×H14), 1.76 (d, J = 6.6 Hz, 3H, 3×H33), 2.00–2.12 (m, 4H, 2×H3, 2×H13), 2.33–2.47 (m, 2H, 2×H4), 3.98 (dd, J = 13.3, 6.1 Hz, 1H, 1×H28a), 4.05 (dd, J = 13.3, 6.1 Hz, 1H, 1×H28b), 5.55 (d, J = 15.6 Hz, 1H, H11), 5.63 (dt, J = 15.0, 6.3 Hz, 1H, 1×H32), 5.72 (dd, J = 14.8, 6.7 Hz, 1H, 1×H12), 5.93 (dt, J = 15.6, 6.8 Hz, 1H, 1×H29), 6.07 (m, 1H, 1×H31), 6.11–6.12 (m, 1H, 1×H6), 6.15 (m, 1H, 1×H10), 6.21 (m, 1H, 1×H30), 6.82 (dd, J = 10.0, 3.0 Hz, 1H, 1×H7), 6.89 (dd, J = 10.0, 3.0 Hz, 1H, 1×H9); **^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 14.3 (CH_3 , C27), 18.3 (CH_2 , C33), 22.9 (CH_2 , C26), 29.1 (CH_2 , C15), 29.4 (CH_2 , C24), 29.6 (2× CH_2 , C14, C22), 29.7 (CH_2 , C23), 29.8 (CH_2 , C16), 29.9 (5× CH_2 , C17, C18, C19, C20, C21), 32.1 (CH_2 , C25), 32.2 (CH_2 , C13), 35.4 (CH_2 , C4), 39.6 (CH_2 , C3), 62.9 (CH_2 , C28), 79.0 (C, C5), 110.1 (C, C2), 127.1 (CH, C7), 127.2 (CH, C9), 127.6 (CH, C11), 128.5 (CH, C32), 130.1 (CH, C29), 131.1 (CH, C31), 132.6 (CH, C12), 134.3 (CH, C30), 149.2 (CH, C6), 151.6 (CH, C10), 185.8 (C, C8); **HRMS (ESI+)** m/z found 505.3653. $C_{32}H_{50}O_3Na$ requires 505.3652.

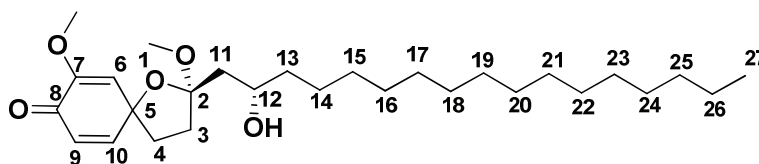
(±)-4-(5-Hydroxy-3-oxoicosyl)-4-methoxycyclohexa-2,5-dienone [(±)-99]



According to **Method B**, using PIFA as oxidant (64 mg, 0.17mmol) and starting from **(±)-78** (44 mg, 0.11mmol) in MeOH (1.5 mL), the product **(±)-99** (19 mg, 0.05 mmol, 36%) and a mixture of **(±)** amomol A and B (10 mg, 0.02 mmol, 18%) were obtained after flash chromatography [silica gel, eluting with cyclohexane/EtOAc (90/10)]. R_f = 0.19 (75/25 cyclohexane/EtOAc); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3407, 2925, 1712, 1668, 1270 cm^{-1} ; **UV (MeOH)** 225 nm; **1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 3H, 3×H26), 1.23–1.28 (m, 24H, 2×H14, 2×H15, 2×H16, 2×H17, 2×H18,

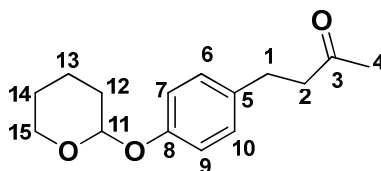
2×H19, 2×H20, 2×H21, 2×H22, 2×H23, 2×H24, 2×H25), 1.29–1.52 (m, 3H, 1×H12a, 2×H13), 1.67 (m, 1H, 1×H12b), 2.04 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, 2×H7), 2.44 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, 2×H8), 2.51 (dd, $J = 15.0$, 6.0 Hz, 1H, 1×H10a), 2.82 (s, 1H, 1×OH), 3.21 (s, 3H, OCH₃), 3.36 (m, 1H, 1×H10b), 4.01 (m, 1H, 1×H11), 6.37 (d, $J = 10.2$ Hz, 2H, 1×H2, 1×H6), 6.71 (d, $J = 10.2$ Hz, 2H, 1×H3, 1×H5); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) 14.3 (CH₃, C26), 22.9 (CH₂, C25), 25.6 (CH₂, C13), 29.6 (CH₂, C23), 29.7 (CH₂, C14), 29.8 (CH₂, C15), 29.9 (7×CH₂, C16, C17, C18, C19, C20, C21, C22), 32.1 (CH₂, C24), 32.6 (CH₂, C1), 36.7 (CH₂, C12), 37.8 (CH₂, C2), 49.5 (CH₃, OCH₃), 53.4 (CH₂, C10), 67.9 (CH, C11), 75.2 (C, C4), 132.0 (2×CH, C2, C6), 150.6 (2×CH, C3, C5), 185.3 (C, C1), 210.3 (C, C9); HRMS (ESI+) m/z found 457.3288. C₂₇H₄₆O₄Na requires 457.3288.

2-(Hydroxyheptadecyl)-2, 7-dimethoxy -1-oxaspiro [4.5] deca-6, 9-dien-8-one (104)



According to **Method A**, and starting from (–)-**102** (18 mg, 0.042 mmol), the product **104** (7 mg, 0.015, 35%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30). $R_f = 0.25$ (60/40 cyclohexane/EtOAc); IR ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 3362, 2924, 1671, 1531, 1463 cm^{–1}; UV (MeOH) 228 nm; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.88 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H, 3×H27), 1.26 (s, 24H, C14, C15, C16, C17, C18, C19, C20, C21, C22, C23, C24, C25), 1.38–1.56 (m, 1H, 1×H13), 1.58–1.73 (m, 1H, 1×H26), 1.92–2.00 (m, 1H, 1×H3a), 2.06–2.18 (m, 1H, 1×H11a), 2.21–2.29 (m, 1H, 1×H4a), 2.28–2.57 (m, 2H, 1×H3b, 1×H11b), 2.66–2.80 (m, 1H, 1×H4b), 3.33 (m, 1H, 1×H12), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 5.67 (dd, $J = 6.0$, 2.5 Hz, 1H, 1×H6), 5.74 (dd, $J = 8.3$, 2.5 Hz, 1H, 1×H10), 6.77 (m, 1H, 1×H9); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) 14.1 (CH₃, C27), 22.7 (CH₂, C26), 25.4 (CH₂, C14), 29.6 (10×CH₂), 29.9 (CH₂, C15), 31.9 (CH₂, C25), 33.3 (CH₂, C4), 36.3 (CH₂, C3), 38.4 (CH₂, C13), 49.3 (CH₃, OCH₃), 55.1 (CH₃, OCH₃), 60.0 (CH, C12), 73.7 (C, C5), 122.1 (C, CH, C2, C6), 128.3 (CH, C9), 151.4 (C, C7), 158.5 (CH, C10), 181.2 (C, C8); HRMS (ESI+) m/z found 487.3395. C₂₈H₄₈O₅Na requires 487.3394.

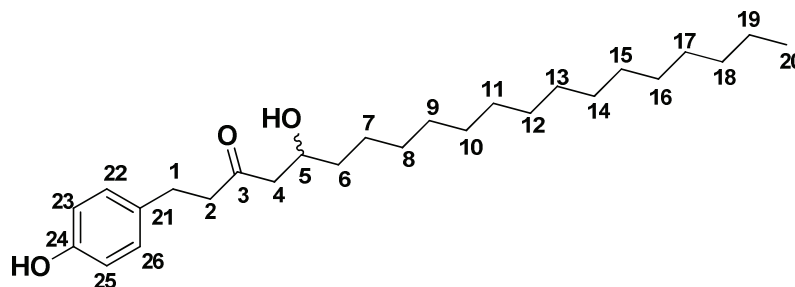
4-(4-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)phenyl)butan-2-one (89)



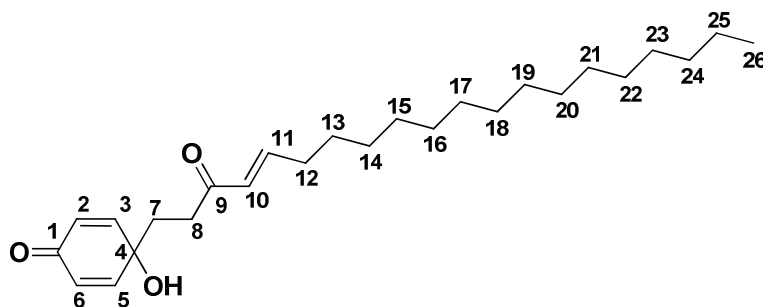
To a stirred solution of 4-(4-hydroxyphenyl)butan-2-one (4.0 g, 24.39 mmol) in CH₂Cl₂ (50 mL) were added PPTS (612 mg, 2.44 mmol) and 3,4-dihydro-2H-pyran (2.5 g, 29.76 mmol). The mixture was stirred for 16 h at room temperature. Then was added an aqueous solution of NaHCO₃ (30 mL), followed by extraction with EtOAc (3×40 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, and evaporated. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (90/10), to give **89** (5.7 g, 22.98 mmol, 94%). $R_f = 0.18$ (90/10 cyclohexane/EtOAc); IR ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 2950, 1713, 1613, 1502 cm^{–1}; UV (MeOH) 274, 222 nm; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.55–1.72 (m, 3H, 2×H13, 1×H14a), 1.80–1.87 (m, 2H,

2×H12), 1.99 (m, 1H, 1×H14b), 2.12 (s, 3H, 3×H4), 2.72 (m, 2H, 2×H1), 2.82 (m, 2H, 2×H2), 3.58 (m, 1H, 1×H15a), 3.89 (m, 1H, 1×H15b), 5.36 (t, $J = 3.2$ Hz, 1H, 1×H11), 6.96 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, 1×H7, 1×H9), 7.08 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, 1×H6, 1×H10); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 18.9 (CH_2 , C13), 24.7 (CH_2 , C14), 25.3 (CH_3 , C14), 29.0 (CH_2 , C4), 30.2 (CH_2 , C12), 30.5 (CH_2 , C1), 45.5 (CH_2 , C2), 62.1 (CH_2 , C15), 96.5 (CH , C11), 116.6 (2×CH, C7, C9), 129.2 (2×CH, C6, C10), 134.1 (C, C5), 155.5 (C, C8), 208.2 (C, C3); HRMS (ESI+) m/z found 271.1310. $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{Na}$ requires 271.1310.

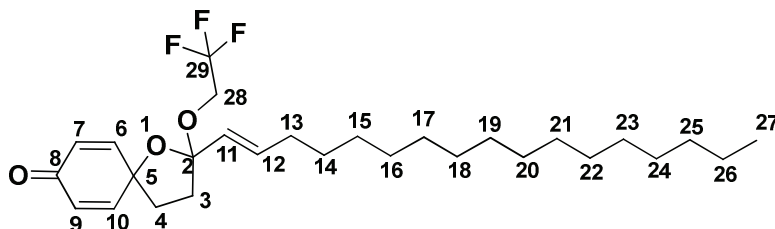
(±)-(S)-5-Hydroxy-1-(4-hydroxyphenyl)icosan-3-one [(±)-78]



To a stirred ice-cold solution of diisopropylamine (918 mg, 9.09 mmol) in THF (10 mL) was added dropwise $n\text{BuLi}$ 2.5 M in hexane (9.09 mmol, 3.63 mL). The mixture was stirred at 0°C for 15 min, and then cooled at -78°C . Ketone **89** (1.88 g, 7.58 mmol) in THF (10 mL) was injected dropwise, stirred for 15 min at -78°C . Then hexadecanal **90** (1.80 g, 7.58 mmol) was injected dropwise, stirred for 30 min, then allowed to warm to room temperature over 1 h, after which time an aqueous solution of NH_4Cl (10 mL) was added, followed by extraction with EtOAc (3×20 mL). The combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered, and evaporated. The residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (80/20), to give the protected compound (1.45 g, 2.97 mmol, 39%). $R_f = 0.15$ (80/20 cyclohexane/EtOAc); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3346, 2909, 1707, 1514, 1351 cm^{-1} ; UV (MeOH) 222.5 nm; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 1.19–1.33 (s, 26H, 2×H7, 2×H8, 2×H9, 2×H10, 2×H11, 2×H12, 2×H13, 2×H14, 2×H15, 2×H16, 2×H17, 2×H18, 2×H19), 1.54–1.73 (m, 2H, 2×H6), 1.79–1.88 (m, 3H, 2×H29, 1×H30), 1.87–1.90 (m, 2H, 2×H28), 1.99 (m, 1H, 1×H30b), 2.47 (dd, $J = 17.5, 8.8$ Hz, 1H, 1×H4a), 2.56 (dd, $J = 17.5, 3.0$ Hz, 1H, 1×H4b), 2.69–2.75 (m, 2H, 2×H1), 2.80–2.87 (m, 2H, 2×H2), 3.59 (m, 1H, 1×H31a), 3.90 (m, 1H, 1×H31b), 4.01 (m, 1H, 1×H5), 5.37 (t, $J = 3.2$ Hz, 1H, 1×H27), 6.96 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, 1×H23, 1×H25), 7.07 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, 1×H22, 1×H26); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.3 (CH_3 , C20), 19.0 (CH_2 , C9), 22.9 (CH_2 , C19), 25.4 (CH_2 , C7), 25.6 (CH_2 , C30), 28.9 (CH_2 , C8), 29.5 (CH_2 , C18), 29.9 (8× CH_2 , C10, C11, C12, C13, C14, C15, C16, C17), 30.6 (CH_2 , C28), 32.1 (CH_2 , C1), 36.6 (CH_2 , C6), 45.5 (CH_2 , C2), 49.5 (CH_2 , C4), 62.3 (CH_2 , C31), 67.8 (CH_2 , C5), 96.6 (CH , C27), 116.6 (2×CH, C23, C25), 129.3 (2×CH, C22, C26), 133.9 (C, C21), 155.7 (C, C24), 211.6 (C, C3); HRMS (ESI+) m/z found 511.3763. $\text{C}_{31}\text{H}_{52}\text{O}_4\text{Na}$ requires 511.3763. A solution of this following protected compound (1.45 g, 2.97 mmol) and PPTS (148 mg, 0.59 mmol) in MeOH (15 mL) was stirred at rt overnight. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue was subjected to silica gel column chromatography, eluting with cyclohexane/EtOAc (75/25), to give (±)-**78** (577 mg, 1.43 mmol, 48%).

4-Hydroxy-4-[(*E*)-3-oxoicos-4-enyl]cyclohexa-2,5-dienone (**111**)

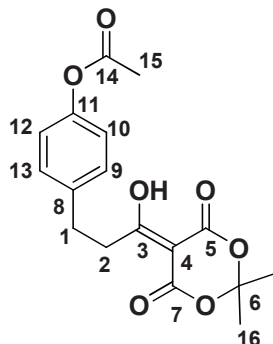
According to **Method A** and starting from **105** (48 mg, 0.12 mmol) and MeOH (43 mg, 1.20 mmol) in HFIP (1.5 mL), the product **111** (31 mg, 0.08 mmol, 67%) was obtained after flash chromatography [silica gel, eluting with CH₂Cl₂/Et₂O (98/2)]. *R_f* = 0.22 (98/2 CH₂Cl₂/Et₂O); IR *v*_{max} (film, CH₂Cl₂) 2926, 1714, 1670, 1271 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H, 1×H26), 1.24–1.28 (m, 22H, 2×H14, 2×H15, 2×H16, 2×H17, 2×H18, 2×H19, 2×H20, 2×H21, 2×H22, 2×H23, 2×H24, 2×H25), 1.44 (m, 2H, 2×H13), 2.10 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, 2×H7), 2.20 (td, *J* = 8.3, 1.4 Hz, 2H, 2×H12), 2.61 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, 2×H8), 6.08 (dt, *J* = 15.8, 1.4 Hz, 1H, 1×H11), 6.18 (d, *J* = 10.2 Hz, 2H, 1×H2, 1×H6), 6.84 (d, *J* = 10.2 Hz, 2H, 1×H3, 1×H5), 6.88 (m, 1H, 1×H10); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 14.3 (CH₃, C26), 22.9 (CH₂, C25), 28.2 (CH₂, C14), 29.4 (CH₂, C13), 29.6 (CH₂, C23), 29.7 (CH₂, C14), 29.9 (8×CH₂, C15, C16, C17, C18, C19, C20, C21, C22), 32.1 (CH₂, C24), 32.7 (CH₂, C12), 33.7 (CH₂, C8), 34.5 (CH₂, C7), 69.4 (C, C4), 128.5 (2×CH, C2, C6), 129.9 (CH, C10), 149.1 (CH, C11), 151.1 (2×CH, C3, C5), 185.6 (C, C1), 199.6 (C, C9); HRMS (ESI+) *m/z* found 425.3032. C₂₆H₄₂O₃Na requires 425.3032.

(±)-4-{2,2,2-Trifluoroethoxy-4-[(*E*)-3-oxoicos-4-enyl]}cyclohexa-2,5-dienone [(±)-**109**]

According to **Method A** and starting from **105** (50 mg, 0.13 mmol) in TFE (1.5 mL), the product (±)-**109** (19 mg, 0.04 mmol, 31%) was obtained after flash chromatography [silica gel, eluting with cyclohexane/EtOAc (95/5)]. *R_f* = 0.45 (90/10 cyclohexane/EtOAc); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H, 1×H27), 1.22–1.32 (m, 24H, 2×H15, 2×H16, 2×H17, 2×H18, 2×H19, 2×H20, 2×H21, 2×H22, 2×H23, 2×H24, 2×H25, 2×H26), 1.35–1.44 (m, 2H, 2×H14), 1.66 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H, 1×H11a), 2.03–2.11 (m, 3H, 1×H3a, 2×H13), 2.15 (m, 1H, 1×H4a), 2.40–2.50 (m, 2H, 1×H3b, 1×H4b), 3.81 (m, 2H, 2×H28), 5.51 (dt, *J* = 15.6, 1.4 Hz, 1H, 1×H11), 6.00 (dt, *J* = 15.6, 6.9 Hz, 1H, 1×H12), 6.14 (dd, *J* = 10.0, 2.0 Hz, 1H, 1×H6), 6.19 (dd, *J* = 10.0, 2.0 Hz, 1H, 1×H10), 6.80 (dd, *J* = 10.0, 3.0 Hz, 1H, 1×H7), 6.86 (dd, *J* = 10.0, 3.0 Hz, 1H, 1×H10); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 14.3 (CH₃, C27), 22.9 (CH₂, C26), 29.0 (CH₂, C25), 29.4 (CH₂, C24), 29.6 (2×CH₂, C15, C23), 29.8 (CH₂, C14), 29.9 (7×CH₂, C16, C17, C18, C19, C20, C21, C22), 32.1 (CH₂, C16), 32.2 (CH₂, C13), 35.2 (CH₂, C4), 39.3 (CH₂, C3), 60.0, 60.3*, 60.7*, 61.0* (CH₂, C28), 79.9 (C, C5), 110.2 (C, C2), 126.9, 127.5*, 128.2* (C, C29), 135.9 (CH, C11), 148.3 (2×CH, C7, C9), 150.3 (CH,

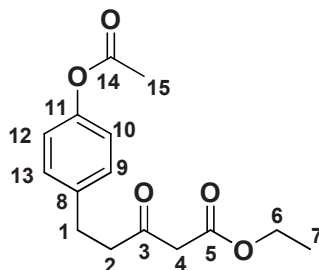
C12), 150.3 (2×CH, C6, C10), 185.4 (C, C8); **HRMS (ESI+)** m/z found 507.3058. $C_{28}H_{43}O_3F_3Na$ requires 507.3062.

4-[3-(2,2-Dimethyl-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-ylidene)-3-hydroxypropyl]-phenyl acetate (**119**)



To a solution of 3-(4-acetoxyphenyl)propanoic acid (16.4 g, 77.1 mmol) in dry CH_2Cl_2 (190 mL) was added dropwise oxalyl chloride (13.3 mL, 154 mmol) at rt followed by addition of few drops of DMF and the mixture was stirred for 3 h at rt. The solvent was removed *in vacuo* to give a yellow oil. To a solution of Meldrum's acid (11.21 g, 77.1 mmol) in dry CH_2Cl_2 (72 mL) was added dropwise at 0°C dry pyridine (12.5 mL, 154.2 mmol). After stirring for 1 h, the freshly prepared acyl chloride in dry CH_2Cl_2 (30 mL) was added dropwise into the mixture. After stirring for 16 h at 0°C and 2 h at rt, the mixture was quenched by addition of a HCl solution 1 N. The product was extracted with CH_2Cl_2 , the combined solution dried over $MgSO_4$ and concentrated to give an orange oil which crystallized in dry EtOH to give a clear yellow solid **119** (18.2 g, 54.49 mmol, 71%). R_f = 0.17 (80/20 cyclohexane/EtOAc); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 1739, 1665, 1578, 1508, 1409, 1292, 1197, 1019, 912 cm^{-1} ; **UV (MeOH)** 208, 263 nm; **1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 1.65 (s, 6H, 6×H16), 2.28 (s, 3H, 3×H15), 3.01 (t, J = 7.2 Hz, 2H, 2×H2), 3.40 (t, J = 7.2 Hz, 2H, 2×H1), 7.01 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 1×H9, 1×H13), 7.27 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 1×H10, 1×H12); **^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 20.3 (CH_3 , C15), 27.2 (2× CH_3 , 2×C16), 31.9 (CH_2 , C1), 32.9 (CH_2 , C2), 96.3 (C, C4), 104.6 (C, C6), 121.5 (2×CH, C9, C13), 129.2 (2×CH, C10, C12), 138.1 (C, C8), 148.5 (C, C11), 162.4 (2×C, C5, C7), 169.0 (C, C14), 186.6 (C, C3); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 357 [$M+Na$]⁺ (100), 335 (19), 336 (3); **HRMS (ESI+)** m/z found 357.0945. $C_{17}H_{18}O_7Na$ requires 357.0948.

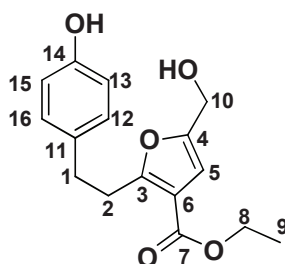
Ethyl-5-(4-acetoxyphenyl)-3-oxopentanoate (**120**)



A solution of **119** (4.5 g, 13.5 mmol) in dry EtOH was stirred at reflux for 3 h. The solvent was removed *in vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography cyclohexane/EtOAc (80/20) to give **120** as colorless oil (3.56 g, 12.8 mmol, 95%). R_f = 0.2 (80/20 cyclohexane/EtOAc); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2984, 1748, 1647, 1509, 1369, 1318, 1196, 1098, 1019, 913, 848 cm^{-1} ; **UV (MeOH)** 270 nm; **1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 3H,

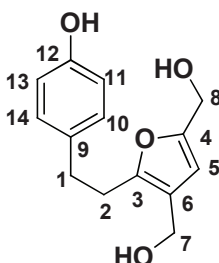
3×H7), 2.28 (s, 3H, 3×H15), 2.78-2.80 (m, 4H, 2×H1, 2×H2), 3.41 (s, 2H, 2×H4), 4.13 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, 2×H6), 6.80 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 1×H9, 1×H13), 7.00 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 1×H10, 1×H12); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.1 (CH_3 , C7), 20.3 (CH_3 , C14), 28.7 (CH_2 , C1), 41.4 (CH_2 , C2), 48.9 (CH_2 , C4), 61.0 (CH_2 , C6), 121.5 (2×CH, C9, C13), 129.2 (2×CH, C10, C12), 138.1 (C, C8), 148.5 (C, C11), 168.1 (C, C5), 169.0 (C, C14), 202.1 (C, C3); LRMS (ESI+) m/z (%) 301 [$M+\text{Na}$] $^+$ (100), 287 (45), 216 (37); HRMS (ESI+) m/z found 301.1046. $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{Na}$ requires 301.1047.

Ethyl-5-(hydroxymethyl)-2-(4-hydroxyphenyl)furan-3-carboxylate (122)



To a solution of **120** (0.78 g, 2.79 mmol) in 1,4-dioxane (6 mL) was added distilled water (3.5 mL), $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5 g, 1.33 mmol), and DL-glyceraldehyde dimer (0.3 g, 1.67 mmol). The mixture was stirred at 90 °C for 10 h. The mixture was concentrated by repeat co-evaporation with toluene (azeotrope). The residue was directly subjected to silica gel column chromatography cyclohexane/EtOAc (65/35) to give **122** (0.45 g, 1.56 mmol, 56%). $R_f = 0.19$ (40/60 cyclohexane/EtOAc); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3362, 2982, 1711, 1680, 1615, 1574, 1518, 1457, 1304, 1215, 1070, 1017, 827 cm^{-1} ; UV (MeOH) 202, 249 nm; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.33 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, 3×H9), 2.85 (t, $J = 8.0$, 2H, 2×H2); 3.23 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H, 2×H1), 4.26 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, 2×H8), 4.55 (s, 2H, 2×H10) 6.54 (s, 1H, 1×H5), 6.75 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, 1×H13, 1×H15), 7.20 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, 1×H12, 1×H16); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.5 (CH_3 , C9), 30.3 (CH_2 , C2), 33.6 (CH_2 , C1), 57.4 (CH_2 , C10), 60.6 (CH_2 , C8), 109.0 (CH, C5), 114.3 (C, C6), 115.4 (2×CH, C12, C16), 129.7 (2×CH, C13, C15), 132.9 (C, C11), 152.1 (C, C4), 154.3 (C, C14), 162.5 (C, C7) 164.2 (C, C3); LRMS (ESI+) m/z (%) 313 (100) [$M+\text{Na}$] $^+$, 301 (75), 167 (40); HRMS (ESI+) m/z found 313.1046. $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{Na}$ requires 313.1045.

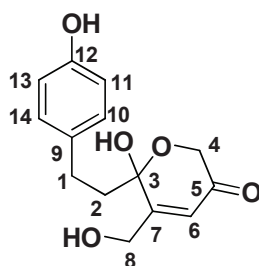
[5-(4-Hydroxyphenethyl)furan-2,4-diyl]dimethanol (114)



To a solution of **122** (0.91 g, 3.12 mmol) in dry THF (37 mL) was added dropwise at 0°C and under argon a solution of LiAlH_4 in THF (15.6 mL, 15.6 mmol, 1 M in THF). The mixture was stirred at rt overnight. The mixture was quenched by addition of EtOAc, followed by an aqueous solution of NH_4Cl . The product was extracted with EtOAc, dried over MgSO_4 and concentrated. The residue was

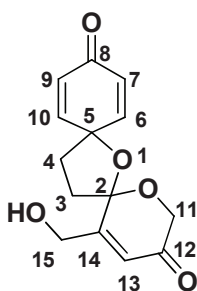
subjected to silica gel column chromatography cyclohexane/EtOAc (20/80) to give **114** (0.67 mg, 2.70 mmol, 86%). $R_f = 0.30$ (20/80 cyclohexane/EtOAc); **IR** ν_{\max} (film, CH_2Cl_2) 3350, 2946, 2918, 1611, 1518, 1445, 1364, 1235, 1174, 1146, 1082, 1002, 827 cm^{-1} ; UV (MeOH) 278, 225 nm; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2.74–2.86 (m, 4H, 2 \times H1, 2 \times H2), 4.14 (s, 2H, 2 \times H8), 4.45 (s, 2H, 2 \times H7), 6.22 (s, 1H, 1 \times H5), 6.68 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 1 \times H11, 1 \times H13), 6.91 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 1 \times H10, 1 \times H14); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 29.7 (CH_2 , C2), 35.1 (CH_2 , C1), 56.2 (CH_2 , C7), 57.5 (CH_2 , C8), 110.1 (C, C6), 116.1 (2 \times CH, C11, C13), 121.4 (CH, C5), 130.5 (2 \times CH, C10, C14), 133.4 (C, C9), 153.0 (C, C4), 153.7 (C, C3), 156.5 (C, C12); **LRMS** (ESI+) m/z (%) 271 [$M+\text{Na}$] $^+$ (100), 218 (20), 231 (15); **HRMS** (ESI+) m/z found 271.0941. $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{Na}$ requires 271.0943.

6-(4-Hydroxyphenethyl)-6-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-2H-pyran-3(6H)-one (123)



To a solution of **114** (230 mg, 0.93 mmol) in CH_2Cl_2 /HFIP (1/1) was added at 0°C *m*CPBA (176 mg, 1.02 mmol). After stirring for 1 h at 0°C and 1 h at rt, the mixture was quenched with an aqueous solution of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. The product was extracted with EtOAc, dried over MgSO_4 and concentrated. The residue was subjected to silica gel column chromatography cyclohexane/EtOAc (40/60) to give **123** (182.2 mg, 0.69 mmol, 74%). $R_f = 0.29$ (30/70 cyclohexane/EtOAc); **IR** ν_{\max} (film, CH_2Cl_2) 3362, 1674, 1508, 1436, 1303, 1254, 1052, 1016, 826, 746 cm^{-1} ; UV (MeOH) 224, 278 nm; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.92–2.07 (m, 2H, 2 \times H2), 2.40–2.51 (m, 1H, COH), 2.67–2.79 (m, 1H, CH_2OH), 3.29–3.33 (m, 2H, 2 \times H1), 4.07 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H, 1 \times H4a), 4.35 (t, $J = 2.0$ Hz, 2H, 2 \times H8), 4.67 (d, $J = 16.8$, 1H, 1 \times H4b), 4.89 (s, 1H, ArOH), 6.25 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H, 1 \times H6), 6.28 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 1 \times H11, 2 \times H13), 6.98 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 1 \times H10, 1 \times H14); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 30.3 (CH_2 , C1), 42.0 (CH_2 , C2), 61.2 (CH_2 , C8), 67.1 (CH_2 , C4), 96.5 (C, C3), 116.4 (2 \times CH, C11, C13), 122.1 (CH, C6), 130.3 (2 \times CH, C10, C14), 133.8 (C, C9), 156.7 (C, C12), 166.5 (C, C7), 197.6 (C, C5); **LRMS** (ESI+) m/z (%) 287 [$M+\text{Na}$] $^+$ (100), 285 (28), 310 (27); **HRMS** (ESI+) m/z found 287.0895. $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_5\text{Na}$ requires 287.0890.

(\pm)-2[5-(Hydroxymethyl)-2H-Pyran-3(6H)-one]-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-dien-8-one [(\pm)-115]

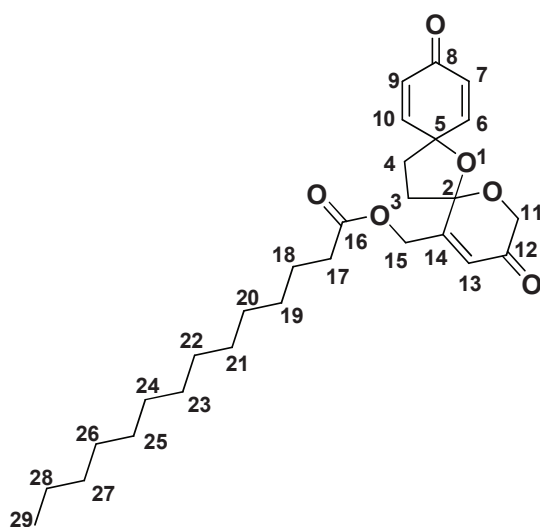


Method E: To a solution of **123** (11 mg, 0.043 mmol) in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{HFIP}$ 1/1) (1 mL) was added at 0°C PIDA (20.9 mg, 0.065 mmol). After stirring for 30 min at 0°C , solid NaHCO_3 was added. The solid was then removed by filtration and the solution was concentrated *in vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography cyclohexane/EtOAc (40/60) to give (\pm)-**115** (8.5 mg, 74%).

Method F: To a solution of **114** (160 mg, 0.65 mmol) in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{HFIP}$ (6 mL) was added at 0°C *m*CPBA (124 mg, 0.72 mmol). After stirring for 1 h at 0°C and 1 h at rt, 4-iodotoluene (14.17 mg, 0.065 mmol) was added at rt. After completion (about 15 min) solid NaHCO_3 was added. The solid was then removed by filtration and the solution was concentrated *in vacuo*. The residue was subjected to alumina column chromatography cyclohexane/EtOAc (20/80) to give (\pm)-**115** (38 mg, 22%).

Method G: To a solution of **114** (31 mg, 0.12 mmol) in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{HFIP}$ (2 mL) was added at rt *m*CPBA (45 mg, 0.26 mmol) and 4-iodotoluene (3 mg, 0.012 mmol). After stirring until completion (1 h), NaHCO_3 solid was added. The solid was then removed by filtration and the solution was concentrated *in vacuo*. The residue was subjected to alumina column chromatography cyclohexane/EtOAc (20/80) to give (\pm)-**115** (8 mg, 25%). $R_f = 0.25$ (30/70 cyclohexane/EtOAc); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3343, 2954, 1675, 1631, 1457, 1429, 1247, 1162, 1082, 1013, 860 cm^{-1} ; UV (MeOH) 203 nm; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2.17–2.26 (m, 1H, 1 \times H3a), 2.29–2.35 (m, 1H, 1 \times H3b), 2.43–2.57 (m, 2H, 2 \times H4), 4.15 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H, 1 \times H11a), 4.30 (dd, $J = 20.0, 2.0$ Hz, 1H, 1 \times H15a), 4.43 (dd, $J = 20.0, 2.0$ Hz, 1H, 1 \times H15b), 4.45 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H, 1 \times H11b), 6.12 (dd, $J = 25.2, 2.0$ Hz, 1H, 1 \times H7), 6.13 (dd, $J = 5.2, 1.6$ Hz, 1H, 1 \times H9), 6.29 (t, $J = 3.6$ Hz, 1H, 1 \times H13), 7.02 (dd, $J = 20.6, 4.0$ Hz, 1H, 1 \times H6), 7.03 (dd, $J = 7.2, 4.0$ Hz, 1H, 1 \times H10); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 35.7 (CH_2 , C3), 36.0 (CH_2 , C4), 61.5 (CH_2 , C15), 68.1 (CH_2 , C11), 80.8 (C, C2), 107.2 (C, C5), 124.0 (CH, C13), 128.0 (CH, C7), 128.4 (CH, C9), 150.6 (CH, C6), 152.8 (CH, C10), 162.0 (C, C14), 187.3 (C, C8), 196.8 (C, C12); LRMS (ESI+) m/z (%) 285 [$M+\text{Na}$] $^+$ (100), 263 (16), 264 (2); HRMS (ESI+) m/z found 285.0733. $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{Na}$ requires 285.0736.

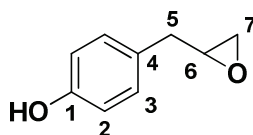
(\pm)-2-[(5,6-Dihydro-5-oxo-2H-pyran-3-yl)methyltetradecanoate]-1 oxaspiro[4.5]deca-6,9-dien-8-one [(\pm)-113**]**



To a solution of (\pm)-**115** (35 mg, 0.13 mmol) in dry CH_2Cl_2 (2 mL), was added at 0°C DMAP (16 mg, 0.13 mmol), myristol chloride (43 mg, 0.17 mmol) and Et_3N (17 mg, 0.17 mmol). After 30 min at 0°C and 2 h at rt, an aqueous solution of HCl 1N was added. The product was extracted with CH_2Cl_2 , dried

over MgSO_4 and concentrated. The residue was subjected to silica gel column chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30) to give **(±)-113** (24 mg, 38%). $R_f = 0.18$ (70/30 cyclohexane/EtOAc); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2914, 2845, 1752, 1683, 1469, 1275, 1251, 1162, 1025, 1013, 900, 847 cm^{-1} ; **UV** (MeOH) 221 nm; **^1H NMR** (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, 3×H29), 1.26–1.28 (m, 20H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}$), 1.67–1.75 (m, 2H, 2×H18), 2.19–2.29 (m, 2H, 2×H3), 2.23–2.38 (m, 2H, 2×H4), 2.52–2.60 (m, 2H, 2×H17), 4.18 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H, 1×H11a), 4.51 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H, 1×H11b), 4.72 (dd, $J = 20.0, 1.6$ Hz, 1H, 1×H15a), 4.91 (dd, $J = 20.0, 1.6$ Hz, 1H, 1×H15b), 6.19 (dd, $J = 11.6, 2.0$ Hz, 1H, 1×H7), 6.22 (dd, $J = 11.6, 2.0$ Hz, 1H, 1×H9), 6.25 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H, 1×H13), 6.80 (dd, $J = 10.0, 3.2$ Hz, 1H, 1×H6), 6.89 (dd, $J = 10.0, 3.2$ Hz, 1H, 1×H10); **^{13}C NMR** (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.3 (CH_3 , C29), 22.9 (CH_2 , C28), 25.0 (CH_2 , C18), 28.7 (CH_2 , C17), 29.2 (CH_2 , C27), 29.7 (8× CH_2), 30.1 (CH_2 , C3), 33.7 (CH_2 , C4), 61.7 (CH_2 , C15), 67.0 (CH_2 , C11), 79.7 (C, C2), 105.9 (C, C5), 125.4 (CH, C13), 128.0 (2×CH, C7, C9), 147.2 (2×CH, C6, C10), 149.7 (C, C14), 173.3 (C, C16), 185.1 (C, C8), 194.7 (C, C12); **LRMS** (ESI+) m/z (%) 495 [$M+\text{Na}$] $^+$ (100), 143 (95), 245 (65), 217 (40); **HRMS** (ESI+) m/z found 495.2717. $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{Na}$ requires 495.2718.

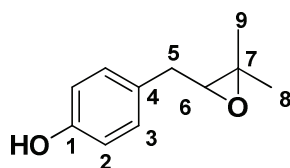
4-(Oxiran-2-ylmethyl)phenol (**129a**)



General procedure of epoxidation

To a stirred solution of 4-allylphenol (1.0 g, 7.46 mmol), in dry CH_2Cl_2 (2 mL), was added *m*CPBA (2.57 g, 14.92 mmol). The mixture was stirred at 0°C for 2 h, then at rt overnight. An aqueous solution of Na_2SO_3 [10% (wt/wt), 4 mL] was added and the organic phase was washed with an aqueous solution of NaCl (4 mL) and filtrated on alumina. Organic phase was then dried over MgSO_4 , filtrated and concentrated *in vacuo*. After flash chromatography cyclohexane/EtOAc (80/20), the product **129a** (50 mg, 0.31 mmol, 45%) was obtained. $R_f = 0.11$ (90/10 cyclohexane/EtOAc); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3382, 1514, 1265, 831, 738 cm^{-1} ; **^1H NMR** (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2.58 (dd, $J = 4.8, 2.8$ Hz, 1H, H7a), 2.80 (dd, $J = 8.6, 4.9$ Hz, 2H, 2×H5), 2.82 (dd, $J = 9.5, 2.8$ Hz, 1H, H7b), 3.17 (m, 1H, H6), 6.76 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, 2×H2), 7.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, 2×H3); **^{13}C NMR** (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 37.8 (CH_2 , C7), 47.0 (CH, C6), 52.9 (CH_2 , C5), 115.5 (2×CH, 2×C2), 129.0 (C, C4), 130.2 (2×CH, 2×C3), 154.6 (C, C1); **LRMS** (ESI+) m/z (%) 151 (85) [$M+\text{H}$] $^+$, 107 (100) [$M-\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_1$] $^+$; **HRMS** (ESI+) m/z found 151.0754. $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_2$ requires 151.0753.

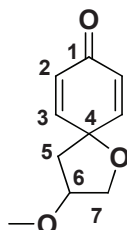
(S)-4-[(3,3-dimethyloxiran-2-yl)methyl]phenol (**129b**)



According to the general procedure of epoxidation, and starting from 4-(4-methylpent-3-enyl)phenol (170 mg, 0.97 mmol) and *m*CPBA (416 mg, 2.41 mmol) in CH_2Cl_2 (5 mL), the product **129b** (91 mg, 0.47 mmol, 49%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (80/20). $R_f = 0.22$

(85/15 cyclohexane/EtOAc); **IR** ν_{\max} (film, CH_2Cl_2) 3054, 2986, 1716, 1421, 1265, 896, 739, 705 cm^{-1} ; **^1H NMR** (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.39 (s, 3H, 3 \times H9), 1.45 (s, 3H, 3 \times H8), 2.80 (dd, J = 14.7, 6.5 Hz, 1H, H5a), 2.90 (dd, J = 14.7, 6.0 Hz, 1H, H5b), 3.00 (t, J = 6.2 Hz, 1H, H6), 6.83 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 2 \times H2), 7.15 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 2 \times H3); **^{13}C NMR** (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 19.0 (CH_3 , C9), 24.9 (CH_3 , C8), 34.5 (CH_2 , C5), 64.4 (C, C7), 64.8 (CH, C6), 115.5 (2 \times CH, 2 \times C2), 129.9 (2 \times CH, 2 \times C3), 130.1 (C, C4), 154.3 (C, C1); **LRMS** (ESI+) m/z (%) 179 (50) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 149 (100) $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$; **HRMS** (ESI+) m/z found 179.1067 $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_2$ requires 179.1068.

3-Methoxy-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-dien-8-one (128a)

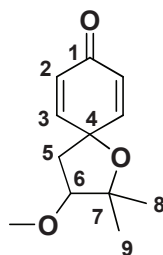


General procedure of oxidation

Method H: To a stirred solution of **129a** (35 mg, 0.24 mmol) in dry CH_2Cl_2 (2 mL) and MeOH (0.1 mL, 1.82 mmol, 10 equiv) was added PIDA (116 mg, 0.36 mmol) at -40°C and under argon for 10 min, after which time CH_2Cl_2 (5 mL) and solid NaHCO_3 was added. The mixture was filtrated and concentrated *in vacuo*. After flash chromatography cyclohexane/ Et_2O (75/25), the product **128a** (27 mg, 0.15 mmol, 63%) was obtained.

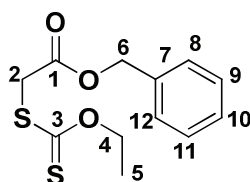
Method I: To a solution of 4-allylphenol (56 mg, 0.42 mmol) and MeOH (0.19 mL, 10 equiv) in dry CH_2Cl_2 (2 mL), were added successively at -40°C , 4-iodotoluene (18 mg, 0.08 mmol) and *m*CPBA (180 mg, 1.04 mmol). The mixture was stirred at -40°C for 2 h, after which time CH_2Cl_2 (5 mL) and solid NaHCO_3 were added. The mixture was filtrated and concentrated *in vacuo*. The residue **128a** (63% yield) was subject after flash chromatography cyclohexane/ Et_2O (75/25). R_f = 0.17 (80/20 cyclohexane/ Et_2O); **IR** ν_{\max} (film, CH_2Cl_2) 3054, 1672, 1421, 1265, 896, 739 cm^{-1} ; **^1H NMR** (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.70 (dd, J = 14.2, 7.6 Hz, 1H, 1 \times H5a), 2.12 (dd, J = 14.2, 3.8 Hz, 1H, 1 \times H5b), 2.45 (dd, J = 10.2, 2.7 Hz, 1H, 1 \times H7a), 2.77 (dd, J = 5.9, 2.7 Hz, 1H, 1 \times H7b), 3.08 (m, 1H, 1 \times H6), 3.24 (s, 3H, OCH_3), 6.40 (dd, J = 10.3, 1.9 Hz, 1H, 1 \times H2a), 6.42 (dd, J = 10.3, 1.9 Hz, 1H, 1 \times H2b), 6.79 (dd, J = 10.3, 3.1 Hz, 1H, 1 \times H3a), 6.92 (dd, J = 10.3, 3.1 Hz, 1H, 1 \times H3b); **^{13}C NMR** (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 43.4 (CH_2 , C5), 46.6 (CH_2 , C7), 47.6 (CH, C6), 53.1 (CH_3 , OCH_3), 74.5 (C, C4), 131.6 (2 \times CH, 2 \times C2), 150.1 (CH, C3a), 150.4 (CH, C3b), 185.0 (C, C1); **LRMS** (ESI+) m/z (%) 203 (50) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 181 (30) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 163 (100) $[\text{M}-\text{OH}]^+$; **HRMS** (ESI+) m/z found 203.0679. $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{Na}$ requires 203.0679.

3-Methoxy-2,2-dimethyl-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-dien-8-one (128b)



According to **Method H** and starting from 4-[(3,3-dimethyloxiran-2-yl)methyl]phenol (40 mg, 0.22 mmol) in CH_2Cl_2 (2 mL) and MeOH (10 equiv) and PIDA (106 mg, 0.33 mmol), the product **128b** (19.3 mg, 0.09 mmol, 41 %) was obtained after flash chromatography cyclohexane/Et₂O (75/25). $R_f = 0.19$ (75/25 cyclohexane/Et₂O); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3054, 2985, 1672, 1265, 738, 705 cm^{-1} ; **¹H NMR** (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.28 (s, 3H, 3×H9), 1.34 (s, 3H, 3×H8), 1.82 (dd, $J = 14.3, 7.6$ Hz, 1H, H5a), 2.16 (dd, $J = 14.3, 4.0$ Hz, 1H, H5b), 2.93 (dd, $J = 7.6, 4.0$ Hz, 1H, H6), 3.29 (s, 3H, OCH₃), 6.45 (dd, $J = 10.4, 1.9$ Hz, 1H, H2a), 6.47 (dd, $J = 10.4, 1.9$ Hz, 1H, H2b), 6.83 (dd, $J = 10.4, 3.1$ Hz, 1H, H3a), 6.95 (dd, $J = 10.4, 3.1$ Hz, 1H, H3b); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 19.0 (CH₃, C9), 24.7 (CH₃, OCH₃), 39.7 (CH₂, C5), 53.1 (CH, C6), 57.3 (C, C7), 59.1 (CH₃, C10), 74.6 (C, C4), 131.6 (2×CH, 2×C2), 150.1 (CH, C3a), 150.5 (CH, C3b), 185.1 (C, C1); **LRMS** (ESI+) m/z (%) 209 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 191 (100) $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$; **HRMS** (ESI+) m/z found 209.1172. $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_3$ requires 209.1174.

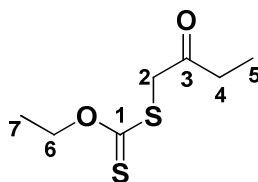
Benzyl-2-(ethoxycarbonothioylthio)acetate (166a)



Method J: General procedure to obtain xanthate, with 166a as example:

To a solution of benzyl 2-chloroacetate (2.8 g, 15 mmol) in acetone (50 mL) was added at 0°C a solution of potassium ethyl xanthate (2.6 g, 16 mmol) in acetone (50 mL). The mixture was stirred for 4 h at rt. The organic solvent was removed *in vacuo* and CH_2Cl_2 was added. The organic layer was washed with brine, dried (MgSO_4) and then evaporated. After Kugelrohr distillation (13 mbar, 180–200°C), the product **166a** (2.74 g, 68%) was isolated as a pale yellow oil (for **166e** and **f**, purification was performed by flash chromatography). $R_f = 0.21$ (95/5 cyclohexane/EtOAc); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2982, 1740, 1615, 1498, 1455, 1376, 1232, 1150 cm^{-1} ; **¹H NMR** (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, 3×H5), 3.93 (s, 2H, 2×H2), 4.58 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, 2×H4), 5.18 (s, 2H, 2×H6), 7.32–7.36 (m, 5H, 1×H8, 1×H9, 1×H10, 1×H11, 1×H12); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 13.7 (CH₃, C5), 37.9 (CH₂, C2), 67.6 (CH₂, C6), 70.8 (CH₂, C4), 128.5 (CH, C10), 128.6 (2×CH, C8, C12), 128.7 (2×CH, C9, C11), 135.4 (C, C7), 167.9 (C, C1), 212.4 (C, C3); **LRMS** (ESI+) m/z (%) 293 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$; **HRMS** (ESI+) m/z found 293.0281. $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{NaS}_2$ requires 293.0282.

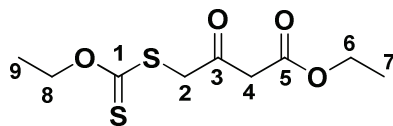
O-Ethyl-S-2-oxobutyl carbonodithioate (166b)



Starting from 1-chlorobutan-2-one (1.0 g, 6.6 mmol), the product **166b** (800 mg, 4.17 mmol, 63%) was purified by distillation (Kugelrohr, 2.2 mbar, 100°C). **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2980, 1729, 1717, 1457, 1376, 1224, 1113, 1052 cm^{-1} ; **¹H NMR** (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.11 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, 3×H5), 1.42 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, 3×H7), 2.65 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, 2×H4), 4.00 (s, 2H, 2×H2), 4.63 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, 2×H6); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.9 (CH₃, C5), 13.9 (CH₃, C7), 35.4 (CH₂,

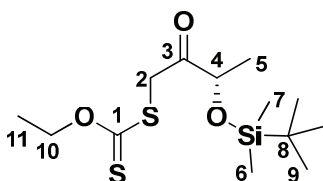
C4), 45.3 (CH₂, C2), 71.0 (CH₂, C6), 204.0 (C, C3), 213.5 (C, C1); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 215 (100) $[M+Na]^+$.

Ethyl 4-(ethoxycarbonothioylthio)-3-oxobutanoate (166c)



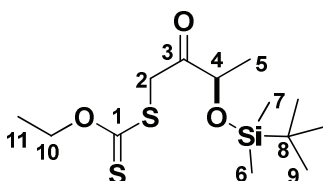
Starting from ethyl-4-chloro-3-oxobutanoate (3.0 g, 18.23 mmol), the product **166c** (3.05 g, 12.2 mmol, 67%) was purified by distillation (Kugelrohr, 2.2 mbar, 150°C), (pale yellow oil). **IR** ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 2983, 1745, 1616, 1376, 1225, 1113, 1048 cm⁻¹; **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ ppm 1.30 (t, J = 7.1 Hz, 3H, 3×H7), 1.42 (t, J = 7.1 Hz, 3H, 3×H9), 3.65 (s, 2H, 2×H4), 4.12 (s, 2H, 2×H2), 4.20 (q, J = 7.1 Hz, 2H, 2×H6), 4.64 (q, J = 7.1 Hz, 2H, 2×H8); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ ppm 13.9 (CH₃, C7), 14.3 (CH₃, C9), 45.6 (CH₂, C4), 48.3 (CH₂, C2), 61.8 (CH₂, C6), 71.2 (CH₂, C8), 166.9 (C, C5), 196.3 (C, C3), 213.0 (C, C1); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 273 (100) $[M+Na]^+$.

(+)-(S)-S-3-(tert-Butyldimethylsilyloxy)-2-oxobutyl O-ethyl carbonodithioate (166f)



Starting from (*S*)-3-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-chlorobutan-2-one (440 mg, 1.86 mmol), the product **166f** (563 mg, 1.75 mmol, 94%) was purified by flash chromatography cyclohexane/Et₂O (95/5). R_f = 0.25 (96/4 cyclohexane/Et₂O); $[\alpha]_D^{20}$ = +7.4 (c = 1.2, CHCl₃); **IR** ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 2960, 2930, 1735, 1725, 1363, 1232, 1110, 1048, 835 cm⁻¹; **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ ppm 0.13 (s, 3H, 3×H6), 0.14 (s, 3H, 3×H7), 0.95 (s, 9H, 9×H9), 1.37 (d, J = 6.8 Hz, 3H, 3×H5), 1.41 (t, J = 7.1 Hz, 3H, 3×H11), 4.30 (d, J = 17.9 Hz, 1H, 1×H2a), 4.34 (q, J = 6.8 Hz, 1H, 1×H4), 4.34 (d, J = 17.9 Hz, 1H, 1×H2b), 4.62 (q, J = 7.1 Hz, 2H, 2×H10); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ ppm -4.9 (CH₃), -4.4 (CH₃), 13.9 (CH₃), 18.1 (C), 21.0 (CH₃), 25.9 (2×CH₃), 42.8 (CH₂), 70.6 (CH₂), 75.0 (CH), 205.7 (C), 213.6 (C); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 345 (100) $[M+Na]^+$, 323 (8); **HRMS (ESI+)** m/z found 345.0989. C₁₃H₂₆O₃NaSiS₂ requires 345.0990.

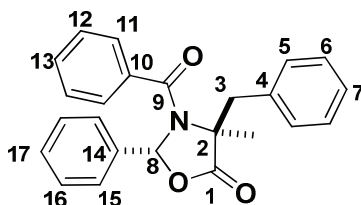
(-)-(R)-S-3-(tert-Butyldimethylsilyloxy)-2-oxobutyl O-ethyl carbonodithioate (166g)



Starting from (*R*)-3-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-chlorobutan-2-one (221 mg, 0.93 mmol), the product **166g** (289 mg, 0.90 mmol, 96%) was purified by flash chromatography cyclohexane/Et₂O (95/5). R_f = 0.25 (96/4 cyclohexane/Et₂O); $[\alpha]_D^{20}$ = -7.3 (c = 1.15, CHCl₃); **IR** ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 2955, 2931, 1735, 1728, 1363, 1224, 1112, 1051, 836 cm⁻¹; **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ ppm 0.13

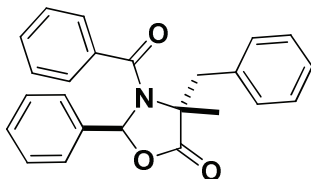
(s, 3H, 3×H6), 0.14 (s, 3H, 3×H7), 0.95 (s, 9H, 9×H9), 1.37 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 3×H5), 1.41 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, 3×H11), 4.30 (d, $J = 17.9$ Hz, 1H, 1×H2a), 4.34 (d, $J = 17.9$ Hz, 1H, 1×H2b), 4.34 (m, 1H, 1×H4), 4.62 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, 2×H10); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm -4.9 (CH_3 , C6), -4.4 (CH_3 , C7), 13.9 (CH_3 , C11), 18.1 (C, C8), 21.0 (CH_3 , C5), 25.9 (3× CH_3 , 3×C9), 42.8 (CH_2 , C2), 70.6 (CH_2 , C10), 75.0 (CH, C4), 205.7 (C, C3), 213.6 (C, C1); LRMS (ESI+) m/z (%) 345 (100) [$M+\text{Na}$] $^+$, 323 (5); HRMS (ESI+) m/z found 345.0987. $\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{NaSiS}_2$ requires 345.0990.

(+)-(2*R*,4*S*)-3-Benzoyl-4-benzyl-4-methyl-2-phenyl-1,3-oxazolidin-5-one [(+)-160]



To a solution of hexamethyldisilazane (5.7 mL, 26.7 mmol) in THF (25 mL) was added *n*-Buli (2.5 M in hexane, 7.8 mL, 19.6 mmol) at -78°C . After 5 min at this temperature, the reaction mixture was allowed to warm to 0°C for 30 min and then cooled to -78°C again. A solution of (+)-(2*R*,4*S*)-3-benzoyl-4-methyl-2-phenyl-1,3-oxazolidin-5-one (5.0 g, 17.8 mmol) in THF (60 mL) was slowly added under nitrogen to this reaction mixture. After stirring for 3 h at this temperature, a solution of benzyl bromide (2.76 mL, 23.1 mmol) in THF (50 mL) was slowly added. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature in 4 h and stirred at this temperature overnight. The solvent was evaporated *in vacuo* and the residue was dissolved in 10% NH_4Cl and extracted with CH_2Cl_2 . The organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered off and concentrated *in vacuo*. After flash chromatography cyclohexane/EtOAc (90/10), the product (+)-**160** (4.42 g, 67%) was isolated as a white solid. $R_f = 0.48$ (20/80 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = +246.9$ ($c = 2.5$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3554, 1795, 1650, 1447, 1393, 1358, 1226, 1170, 1032 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2.18 (s, 3H, CH_3), 3.38 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H, 1×H3a), 3.94 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H, 1×H3b), 5.64 (s, 1H, 1×H8), 6.65 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, 2×H5), 6.75 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H, 2×H6), 7.02–7.11 (m, 4H, 2×H15, 2×H16), 7.15–7.22 (m, 2H, 2×H11), 7.33–7.39 (m, 2H, 2×H12), 7.40–7.45 (m, 3H, 1×H7, 1×H13, 1×H17); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 24.6 (CH_3), 41.3 (CH_2 , C3), 65.6 (C, C2), 90.6 (CH, C8), 126.0 (2×CH, 2×C11), 127.0 (2×CH, 2×C5), 128.0 (CH, C13), 128.5 (2×CH, 2×C5), 128.6 (2×CH, 2×C15), 129.1 (2×CH, 2×C12), 129.8 (CH, C7), 129.9 (CH, C13), 130.2 (2×CH, 2×C6), 136.1 (C, C13), 136.2 (C, C9), 136.4 (C, C4), 169.3 (C, C9), 175.0 (C, C1); LRMS (ESI+) m/z (%) 394 (10) [$M+\text{Na}$] $^+$, 372 (100) [$M+\text{H}$] $^+$, 238 (15); HRMS (ESI+) m/z found 372.1598. $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{NO}_3$ requires 372.1594.

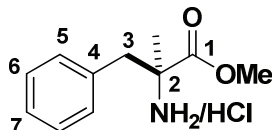
(-)-(2*S*,4*R*)-3-Benzoyl-4-benzyl-4-methyl-2-phenyl-1,3-oxazolidin-5-one [(-)-160]



The product (–)-**160** was obtained as a white solid following the experimental procedure described above, starting from (–)-(2*S*,4*R*)-3-benzoyl-4-methyl-2-phenyl-1,3-oxazolidin-5-one. $[\alpha]_D^{20} = -251.1$

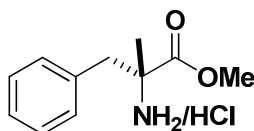
($c = 1.2$, CHCl_3); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 394 (8) $[M+\text{Na}]^+$, 372 (100) $[M+\text{H}]^+$, 238 (15); **HRMS (ESI+)** m/z found 372.1598. $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{NO}_3$ requires 372.1594.

(+)-(2*S*)-Methyl-2-amino-2-methyl-3-phenylpropanoate hydrochloride [(+)-161]



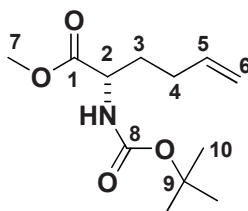
A suspension of oxazolidinone **(+)-160** (1.50 g, 4.04 mmol) in concentrated HCl (18 mL) was refluxed under nitrogen overnight. After cooling down, the precipitate was removed by filtration and the filtrate was evaporated *in vacuo*. The residue was then dissolved in methanol (12 mL) and thionyl chloride (0.88 mL, 12.1 mmol) was slowly added at 0°C. The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and was then concentrated *in vacuo*. The oily residue was precipitated in Et₂O to give the salt of the amino ester **(+)-161** (789 mg, 85%) as a white solid; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +8.5$ ($c = 2.5$, MeOH); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3408, 2075, 1654 cm^{-1} ; **¹H NMR (400 MHz, CD_3OD)** δ ppm 1.64 (s, 3H, CH_3), 3.17 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, 1×H3a), 3.29 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, 1×H3b), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 7.20–7.23 (m, 2H, 2×H5), 7.32–7.51 (m, 3H, 2×H6, 1×H7); **¹³C NMR (100 MHz, CD_3OD)** δ ppm 22.6 (CH_3), 44.2 (CH_2 , C3), 54.0 (CH_3 , OCH_3), 62.1 (C, C2), 129.3 (CH, C7), 130.2 (2×CH, 2×C15), 131.4 (2×CH, 2×C16), 134.5 (C, C4), 172.3 (C, C1); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 194 (100) $[M+\text{H}]^+$; **HRMS (ESI+)** m/z found 194.1177. $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_2$ requires 194.1176.

(–)-(2*R*)-Methyl-2-amino-2-methyl-3-phenylpropanoate hydrochloride [(–)-161]



The product **(–)-161/HCl** was obtained as a white solid (725 mg, 78%) following the experimental procedure described above, starting from compound **(–)-160** (1.50 g, 4.04 mmol). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -8.1$ ($c = 1.1$, MeOH); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 194 (100) $[M+\text{H}]^+$; **HRMS (ESI+)** m/z found 194.1178. $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_2$ requires 194.1176.

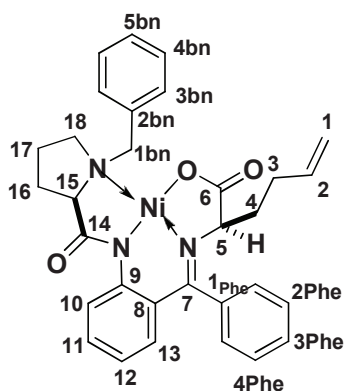
(+)-(S)-Methyl 2-(*tert*-butoxycarbonylamino)hex-5-enoate[(+)-139]



To a suspension of zinc powder (2.48 g, 37.9 mmol) in dry DMF (28 mL) was injected 1,2-dibromoethane (0.17 mL) under argon. The mixture was stirred for 20 min at rt. TMSCl (50 μL) was injected and the solution was stirred at 60°C for 30 min. (*R*)-Methyl-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-iodopropanoate (2.0 g, 6.08 mmol) in DMF (8 mL) was added dropwise. The solution was stirred for 20 min at 60°C. LiCl (587 mg, 13.8 mmol) and CuCN (619 mg, 6.9 mmol) in DMF (6.5 mL) were

injected at -55°C and the mixture was warmed up with stirring for 10 min at 0°C . The solution was cooled again at -55°C and allyl bromide (1.05 mL, 12 mmol) was injected. After 5 min, the mixture was warmed up at 0°C and then stirred for 2 h at this temperature. The unreacted zinc was removed by Celite® filtration and the filtrate was quenched with a saturated aqueous NH_4Cl solution. The product was extracted with EtOAc. The combined organic layer was washed with brine, dried (MgSO_4) and evaporated. After flash chromatography (92/8 cyclohexane/EtOAc), the product (+)-**139** (1.38 g, 93%) was isolated as a colourless oil. $R_f = 0.25$ (90/10 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = +20.5$ ($c = 1.0$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3358, 2978, 1745, 1716, 1518, 1453, 1366, 1249, 1163, 914 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.45 (s, 9H, 3 \times H10), 1.74 (m, 1H, 1 \times H3a), 1.90 (m, 1H, 1 \times H3b), 2.12 (m, 2H, 2 \times H4), 3.74 (s, 3H, 3 \times H7), 4.32 (m, 1H, 1 \times H2), 5.00 (bd, $J = 10.3$ Hz, 1H, 1 \times H6a), 5.05 (bd, $J = 17.0$ Hz, 1H, 1 \times H6b), 5.18 (bd, $J = 7.2$ Hz, 1H, NH), 5.79 (m, 1H, 1 \times H5); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 28.4 (3 \times CH₃, 3 \times C10), 29.6 (CH₂, C4), 32.0 (CH₂, C3), 52.3 (CH₃, C7), 53.0 (CH, C2), 79.8 (C, C9), 115.7 (CH₂, C6), 137.0 (CH, C5), 155.4 (C, C8), 173.4 (C, C1); LRMS (ESI+) m/z (%) 266 (100) $[M+\text{Na}]^+$, 210 (43), 166 (38); HRMS (ESI+) m/z found 266.1374. $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_4\text{Na}$ requires 266.1368.

(-)-(R)-Glycine-nickel-(R)-2-[N-(N'-benzylpropyl)amino]benzophenone-but-1-en complex [(-)-147]

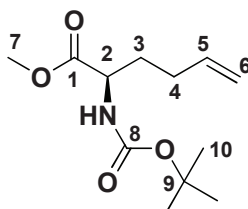


Method K: general procedure to (-)-147

To a suspension of (-)-**145** (6.36 g, 12.80 mmol) and NaOH (1.33 g, 33.25 mmol) in CH_3CN (55 mL) was added the 4-bromobut-1-ene (2.44 g, 19.52 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 2 h. An aqueous solution of HCl 1N (50 mL) was added and the organic phase was extracted with CH_2Cl_2 (3 \times 100 mL), dried over MgSO_4 filtrated and concentrated *in vacuo*. The product (-)-**147** (5.33 g, 9.67 mmol, 76%) was obtained after a flash chromatography acetone/ CH_2Cl_2 (30/70). $R_f = 0.4$ (30/60 acetone/ CH_2Cl_2); $[\alpha]_D^{20} = -9.9$ ($c = 1.0$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2957, 1672, 1637, 1589, 1438, 1330, 1257, 1165, 1063, 913, 752 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.72 (m, 1H, 1 \times H17a), 1.82 (dd, $J = 6.5, 1.4$ Hz, 1H, 1 \times H18a), 2.08 (m, 1H, 1 \times H17b), 2.17 (m, 1H, 1 \times H18b), 2.29 (m, 1H, 1 \times H16a), 2.49 (m, 1H, 1 \times H16b), 2.74 (m, 2H, 2 \times H4), 3.48 (m, 2H, 2 \times H3), 3.57 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H, 1 \times H1bn), 3.90 (dd, $J = 8.6, 3.5$ Hz, 1H, 1 \times H5), 4.43 (dd, $J = 12.7, 5.6$ Hz, 1H, 1 \times H1bn), 4.87 (dd, $J = 10.2, 1.7$ Hz, 1H, 1 \times H1a), 4.96 (qd, $J = 17.1, 1.5$ Hz, 1H, 1 \times H1b), 5.49 (m, 1H, 1 \times H2), 6.64 (m, 2H, 2 \times H3_{bn}), 6.92 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, 1 \times H12), 7.16 (m, 2H, 2 \times H4_{bn}), 7.26 (m, 1H, 1 \times H5_{bn}), 7.35 (m, 2H, 1 \times H11, 1 \times H_{Phe}), 7.42–7.48 (m, 2H, 1 \times H10, 1 \times H13), 7.51 (m, 2H, 2 \times H_{Phe}), 8.05 (m, 2H, 2 \times H_{Phe}), 8.12 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, 1 \times H_{Phe}); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 23.9 (CH₂, C17), 29.5 (CH₂, C16), 30.9 (2 \times CH₂, C4, C3), 35.1 (CH₂, C18), 57.2 (CH₂, C1bn), 63.2 (CH, C5), 70.4 (CH, C15), 115.9

(CH, C1), 120.9 (CH, C10), 123.8 (CH, C12), 126.6 (CH, C5_{bn}), 127.4 (CH, C4_{Ph}), 127.6 (2×CH, 2×C3_{bn}), 128.9 (2×CH, 2×C4_{bn}), 129.0 (2×CH, 2×CH_{Ph}), 129.8 (2×CH, CH_{Ph}), 131.6 (C, C8), 132.2 (CH, C13), 133.3 (CH, C11), 133.8 (CH, C2), 136.6 (2×C, C2_{bn}, C1_{Ph}), 142.3 (C, C9), 170.5 (C, C7), 179.3 (C, C6), 180.5 (C, C14); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 552 (100) $[M+H]^+$, 385 (80); **HRMS (ESI+)** m/z found 574.1611. C₃₁H₃₁N₃NaNiO₃ requires 574.1611.

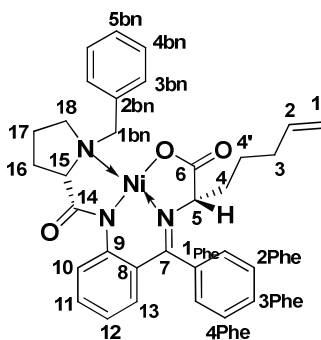
(–)-(2*R*)-tert-Butyl 1-(methoxycarbonyl)pent-4-enylcarbamate [(–)-139]



Method L: general procedure (–)-139

To a suspension of compound (–)-**147** (5.3 g, 9.67 mmol) in MeOH (80 mL) was added 2 M aqueous HCl (100 mL) and the mixture was stirred under reflux for 2 h. The green solution was cooled to room temperature and basified to pH 9–10 with 25% ammonia solution. After extraction with CH₂Cl₂ the aqueous layer was concentrated *in vacuo* to afford a green solid estimate to 1.25 g, (100%). Freshly distilled SOCl₂ (1.2 mL, 14.81 mmol) was added dropwise to a suspension of the following green solid (1.25 g, 9.67 mmol) in dry methanol (100 mL) under nitrogen at 0 °C, and the reaction mixture was stirred under reflux for 3 h. The solvent was removed under reduced pressure and the solid residue was dissolved in CH₃CN (75 mL) and was placed in an icewater bath. Et₃N (2.1 mL, 14.81 mmol) and Boc₂O (3.23 g, 14.81 mmol) were added and the suspension was stirred for 16 h at rt. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was dissolved in water (50 mL) and EtOAc (75 mL). The organic layer was separated and the aqueous layer was extracted with EtOAc (2×75 mL). The combined organic extracts were dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give an oil which was purified by silica gel column chromatography using cyclohexane/EtOAc (95/5) as eluent to afford compound (–)-**139** (2.30 g, 9.47 mmol, 98%). $[\alpha]_D^{20} = -19.2$ (c = 1.0, CHCl₃); **HRMS (ESI+)** m/z found 266.1368. C₁₂H₂₁NO₄Na requires 266.1368.

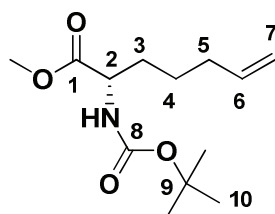
(+)-(S)-Glycine-nickel-(S)-2-[N-(N'-benzylpropyl)amino]benzophenone-pent-1-en complex [(+)-150]



According to **Method K**, and starting from (+)-**145** (9.9 g, 19.81 mmol), NaOH (2.0 g, 49.53 mmol) and 5-bromopent-1-ene (4.4 g, 29.72 mmol) in CH₃CN (100 mL), the product (+)-**150** (9.5 g, 16.77 mmol, 85%) was obtained after flash chromatography acetone/CH₂Cl₂ (30/70). $R_f = 0.4$ (30/60)

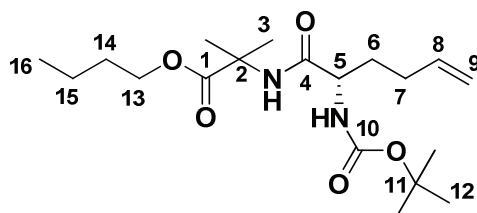
acetone/CH₂Cl₂); $[\alpha]_D^{20} = +6.1$ ($c = 1.0$, CHCl₃); IR ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 2957, 1671, 1637, 1589, 1439, 1330, 1256, 1165, 1063, 913, 752 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.58–1.77 (m, 1H, 1×H17a), 1.87–2.11 (m, 4H, 2×H18, 2×H4'), 2.13–2.19 (m, 2H, 1×H17b, 1×H16a), 2.17–2.31 (m, 1H, 1×H16b), 2.45–2.60 (m, 1H, 1×H4a), 2.81–2.71 (m, 1H, 1×H4b), 3.49 (m, 2H, 2×H3), 3.57 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H, 1×H1_{bn}), 3.91 (dd, $J = 8.1, 3.5$ Hz, 1H, 1×H5), 4.42 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H, 1×H1_{bn}), 4.95 (m, 2H, 2×H1), 5.72 (tdd, $J = 16.9, 10.2, 6.7$ Hz, 1H, 1×H2), 6.64 (m, 2H, 2×H4_{bn}), 6.91 (d, $J = 7.43$ Hz, 1H, 1×H12), 7.12 (m, 1H, 1×H4_{bn}), 7.18 (m, 1H, 1×H4_{bn}), 7.26 (m, 1H, 1×H5_{bn}), 7.34 (m, 2H, 1×H11, 1×H_{phe}), 7.42–7.47 (m, 2H, 1×H10, 1×H13), 7.51 (m, 2H, 2×H_{phe}), 8.05 (m, 2H, 2×H_{phe}), 8.13 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, 1×H_{phe}); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 23.7 (CH₂, C16), 24.6 (CH₂, C17), 30.8 (2×CH₂, C4, C3), 33.3 (CH₂, C4'), 34.8 (CH₂, C18), 57.1 (CH₂, C1_{bn}), 63.2 (CH, C5), 70.3 (CH, C15), 115.3 (CH, C1), 120.7 (CH, C10), 123.7 (CH, C12), 126.5 (CH, C5_{bn}), 127.2 (CH, C4_{phe}), 127.6 (2×CH, 2×C3_{bn}), 128.9 (4×CH, 2×C4_{bn}, 2×CH_{phe}), 129.7 (2×CH, 2×CH_{phe}), 131.6 (C, C8), 132.1 (CH, C13), 133.3 (CH, C11), 133.8 (CH, C2), 137.7 (2×C, C2_{bn}, C1_{phe}), 142.3 (C, C9), 170.3 (C, C7), 179.3 (C, C6), 180.3 (C, C14); HRMS (ESI+) m/z found 588.1512. C₃₂H₃₃N₃NaNiO₃ requires 588.1512.

(+)-(2S)-tert-Butyl 1-(methoxycarbonyl)hex-4-enylcarbamate [(+)-151]



According to **Method L**, starting from **(+)-150** (9.48 g, 16.75 mmol), the green solid (2.40 g, 100%) was obtained. Starting from this green solid (2.40, 16.75 mmol), SOCl₂ (2.8 mL, 36.88 mmol), Et₃N (4.20 mL, 30.17 mmol) and Boc₂O (4.02 g, 18.44 mmol), the product **(+)-151** (3.19, 12.40 mmol, 74%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (95/5). $R_f = 0.15$ (95/5 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = +11.4$ ($c = 0.2$, CHCl₃); IR ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 3359, 2977, 1743, 1718, 1520, 1450, 1366, 1249, 1163, 915 cm⁻¹; NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.34 (s, 11H, 9×H10, 2×H4), 1.53 (m, 1H, 1×H3a), 1.71 (m, 1H, 1×H3b), 1.96 (m, 2H, 2×H5), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 4.18 (dd, $J = 12.9, 7.5$ Hz, 1H, 1×H2), 4.86 (m, 2H, 2×H7), 5.16 (d, $J = 8.12$ Hz, 1H, NH), 5.66 (m, 1H, 1×H6); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 24.5 (CH₂, C4), 27.2 (3×CH₃, 3×C10), 31.9 (CH₂, C5), 33.0 (CH₂, C3), 51.9 (CH₃, OCH₃), 53.2 (CH, C2), 79.4 (C, C9), 114.9 (CH₂, C7), 137.8 (CH, C6), 155.3 (C, C8), 173.1 (C, C1); LRMS (ESI+) m/z (%) 258 (100) [$M+H$]⁺; HRMS (ESI+) m/z found 280.1520. C₁₃H₂₃NO₄Na requires 280.1519.

(-)-(S)-Butyl 2-[2-(tert-butoxycarbonylamino)hex-5-enamido]-2-methylpropanoate [(-)-141]

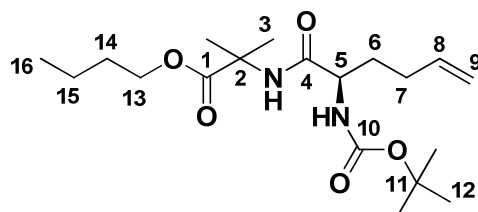


Method M: general procedure [(-)-141]

To a solution of amino acid **(+)-139** (1.0 g, 4.11 mmol) in THF (15 mL) was added LiOH (452 mg, 10.28 mmol) in water (15 mL). The mixture was stirred at rt 2–3 h until complexation. An aqueous

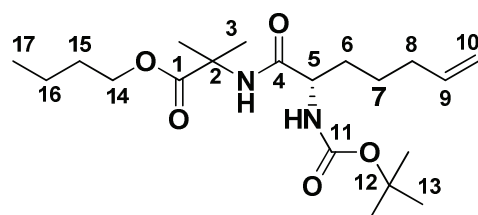
solution of H_3PO_4 5% was added until pH 3, and the organic phase was extracted with EtOAc, dried (MgSO_4) and evaporated to give the corresponding unprotected carboxylic acid C-terminal (915 mg, 4.0 mmol). To a cooled solution of the following residue and H-Aib-O-Bu (654 mg, 4.11 mmol) in dry DMF (20 mL) was added HOBt. H_2O (554 mg, 4.11 mmol), DCC (954 mg, 4.93 mmol) and Et_3N (0.6 mL, 4.11 mmol) and the mixture was stirred at rt overnight (18 h). DMF was evaporated and the residue was diluted with EtOAc and washed with 10% citric acid, 4% sodium carbonate, and brine. The organic phase was dried (MgSO_4) and evaporated. The residue was purified by flash chromatography cyclohexane/EtOAc (80/20) to give the corresponding dipeptide (–)-**141** (1.23 g, 3.32 mmol, 81%). $R_f = 0.23$ (80/20 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -17.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3358, 2978, 2890, 1745, 1750, 1518, 1453, 1366, 1220, 1070, 914 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.82 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 3 \times H16), 1.26 (m, 2H, 2 \times H15), 1.32 (ds, 9H, 9 \times H12), 1.41 (ds, 6H, 6 \times H3), 1.50 (m, 2H, 2 \times H14), 1.61 (m, 1H, 1 \times H6a), 1.77 (m, 1H, 1 \times H6b), 2.04 (dd, $J = 13.7$, 6.7 Hz, 2H, 2 \times H7), 4.00 (m, 2H, 2 \times H13), 4.1 (td, $J = 12.0$, 5.9 Hz, 1H, 1 \times H5), 4.90 (m, 2H, 2 \times H9), 5.57–5.79 (m, 2H, 1 \times H8, NH), 7.28 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 13.5 (CH_3 , C16), 18.9 (CH_2 , C15), 24.5 (CH_3 , 1 \times C3a), 25.0 (CH_3 , 1 \times C3b), 28.2 (3 \times CH_3 , 3 \times C12), 29.6 (CH_2 , C7), 30.4 (CH_2 , C14), 31.7 (CH_2 , C6), 53.7 (CH , C5), 56.0 (C, C2), 64.9 (CH_2 , C13), 79.4 (C, C11), 115.1 (CH_2 , C9), 137.4 (CH , C8), 155.7 (C, C10), 171.5 (C, C1), 174.0 (C, C4); LRMS (ESI+) m/z (%) 315 (100), 317 (75) $[M+\text{H}]^+$; HRMS (ESI+) m/z found 393.2360. $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ requires 393.2365.

(+)-(R)-Butyl 2-[2-(tert-butoxycarbonylamino)hex-5-enamido]-2-methylpropanoate [(+)-141]



According to **Method M**, and starting from (–)-**139** (959 mg, 3.95 mmol) and H-Aib-OnBu (636 mg, 4 mmol), the product (+)-**141** (1.23 g, 3.32 mmol, 81%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (80/20); $[\alpha]_D^{20} = +16.5$ ($c = 1.0$, CHCl_3); LRMS (ESI+) m/z (%) 315 (100), 317 (75) $[M+\text{H}]^+$; HRMS (ESI+) m/z found 393.2365. $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ requires 393.2365.

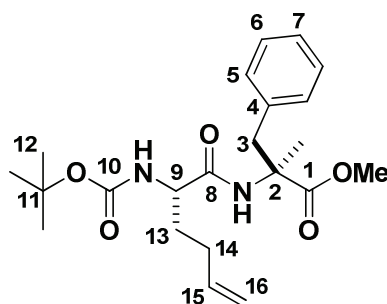
(–)-(S)-Butyl 2-[2-(tert-butoxycarbonylamino)hept-6-enamido]-2-methylpropanoate [(–)-152]



According to **Method M**, and starting from (+)-**151** (135 mg, 0.53 mmol) and H-Aib-OnBu (84.3 mg, 0.53 mmol), the product (–)-**152** (157 mg, 0.41 mmol, 77%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (80/20). $R_f = 0.23$ (80/20 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -16.9$ ($c = 1.0$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3358, 2978, 2890, 1745, 1750, 1518, 1453, 1366, 1220, 1070, 914 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.91 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 3 \times H17), 1.35 (m, 2H, 2 \times H16), 1.41 (m, 2H, 2 \times H15), 1.43 (s, 9H, 9 \times H13), 1.51 (s, 6H, 6 \times H3), 1.60 (m, 3H, 2 \times H7, 1 \times H6a), 1.78 (m, 1H, 1 \times H6b), 2.05 (m, 2H, 2 \times H8), 4.09 (m, 2H, 2 \times H14), 4.95 (m, 2H, 2 \times H10), 5.27 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, 1 \times H5), 5.75 (tdd, $J = 16.9$, 10.2, 6.7 Hz, 1H, 1 \times H9), 7.0 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 13.8 (CH_3 ,

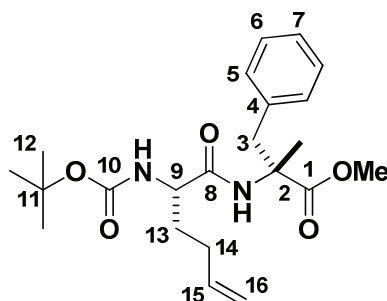
C17), 19.1 (CH₂, C16), 24.7 (CH₂, C7), 24.8 (CH₂, C15), 26.9 (CH₃, C3a), 28.4 (3×CH₃, 3×C13), 30.6 (CH₃, C3b), 32.1 (CH₂, C6), 33.4 (CH₂, C8), 54.4 (CH, C5), 56.4 (C, C2), 65.3 (CH₂, C14), 79.8 (C, C12), 114.9 (CH₂, C10), 138.2 (CH, C9), 155.9 (C, C11), 171.4 (C, C1), 174.4 (C, C4); **LRMS (ESI+)** *m/z* (%) 385 (100) [*M*+H]⁺, 329 (90); **HRMS (ESI+)** *m/z* found 407.2515. C₂₀H₃₆N₂NaO₅ requires 407.2516.

(+)-(2*R*,5*S*)-Methyl-2-benzyl-5-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-2-methyl-4-oxonon-8-enoate [(+)-162]



According to **Method M**, and starting from (+)-**161** (655 mg, 2.69 mmol) and (+)-**139** (789 mg, 3.43 mmol), the product (+)-**162** (1.0 g, 92%) was obtained after a flash chromatography cyclohexane/EtOAc (90/10). *R_f* = 0.48 (70/30 cyclohexane/EtOAc); [*α*]_D²⁰ = +5.8 (c = 1.8, CHCl₃); IR *v*_{max} (film, CH₂Cl₂) 3313, 2974, 1740, 1666, 1523, 1249, 1168, 1123 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.47 (s, 9H, 9×H12), 1.65–1.72 (m, 4H, 1×H13a, CH₃), 1.92–2.02 (m, 1H, 1×H13b), 2.16 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, 2×H14), 3.22 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H, 1×H3a), 3.55 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H, 1×H3b), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 4.02–4.12 (m, 1H, 1×H9), 4.95–5.11 (m, 2H, 2×H16), 5.82 (ddt, *J* = 17.0, 10.2, 6.6 Hz, 1H, 1×H15), 6.71 (bs, NH), 7.06 (dd, *J* = 7.8, 2.0 Hz, 2H, 2×H5), 7.21–7.29 (m, 3H, 2×H6, 1×H7); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 23.3 (CH₃), 28.5 (3×CH₃, 3×C12), 29.9 (CH₂, C14), 31.8 (CH₂, C13), 41.7 (CH₂, C3), 52.8 (CH₃, OCH₃), 54.5 (CH, C9), 61.3 (C, C2), 80.2 (C, C11), 115.9 (CH₂, C16), 127.2 (CH, C7), 128.5 (2×CH, 2×C5), 130.0 (2×CH, 2×C6), 136.2 (C, C4), 137.4 (CH, C15), 155.7 (C, C10), 171.5 (C, C1), 174.2 (C, C8); **LRMS (ESI+)** *m/z* (%) 405 (58) [*M*+H]⁺, 349 (100) [*M*-*t*Bu+2H]⁺, 305 (69) [*M*-Boc+2H]⁺; **HRMS (ESI+)** *m/z* found 405.2386. requires C₂₂H₃₃N₂O₅ 405.2384.

(-)-(2*S*,5*S*)-Methyl-2-benzyl-5-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-2-methyl-4-oxonon-8-enoate [(-)-164]

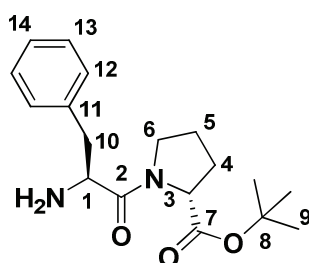


According to **Method M**, and starting from (-)-**161** (420 mg, 1.73 mmol) and (+)-**139** (594 mg, 2.59 mmol), the product (-)-**164** (532 mg, 76%) was obtained after a flash chromatography cyclohexane/EtOAc (90/10). *R_f* = 0.55 (30% EtOAc/cyclohexane); [*α*]_D²⁰ = -14.4 (c = 1.6, CHCl₃); IR *v*_{max} (film, CH₂Cl₂) 3415, 1650, 1527, 1258, 1168, 1119 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm

1.46 (s, 9H, 9×H12), 1.63 (s, 3H, CH₃), 1.64–1.73 (m, 1H, 1×H13a), 1.81–1.93 (m, 1H, 1×H13b), 2.10 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, 2×H14), 3.28 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H, 1×H3a), 3.46 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H, 1×H3b), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 4.00–4.12 (m, 1H, 1×H9), 4.99–5.07 (m, 2H, 2×H15), 5.08–5.16 (m, 1H, NH), 5.80 (ddt, $J = 17.0, 10.3, 6.6$ Hz, 1H, 1×H15), 6.64 (bs, NH), 7.08 (dd, $J = 8.0, 1.4$ Hz, 2H, 2×H5), 7.24–7.32 (m, 3H, 2×H6, 1×H7); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 23.3 (CH₃), 28.4 (3×CH₃, 3×C12), 29.8 (CH₂, C14), 31.8 (CH₂, C13), 41.6 (CH₂, C3), 52.8 (CH₃, OCH₃), 54.3 (CH, C9), 60.9 (C, C2), 80.0 (C, C11), 115.8 (CH₂, C16), 127.2 (CH, C7), 128.5 (2×CH, 2×C5), 130.1 (2×CH, 2×C6), 136.1 (C, C4), 137.4 (CH, C15), 155.7 (C, C10), 171.5 (C, C1), 174.2 (C, C8); LRMS (ESI+) m/z (%) 405 (63) [$M+H$]⁺, 349 (100) [$M-tBu+2H$]⁺, 305 (73) [$M-Boc+2H$]⁺; HRMS (ESI+) m/z found 405.2384. requires C₂₂H₃₃N₂O₅ 405.2385.

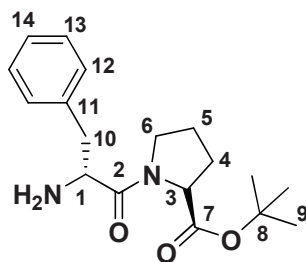
Method N: general procedure for (+)-142

(+)-(S)-tert-Butyl 1-((S)-2-amino-3-phenylpropanoyl)pyrrolidine-2-carboxylate [(+)-142]



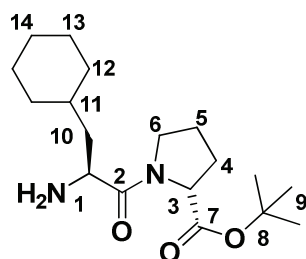
To a solution of Z-Phe-OH (2.88 g, 9.60 mmol) and H-D-Pro-*Or*Bu (2.0 g, 9.60 mmol) in DMF (20 mL) was added at 0°C HOBt (1.30 g, 9.60 mmol), DCC (2.4 g, 11.52 mmol), Et₃N (1.37 g, 10.0 mmol). The mixture was stirred at 0°C for 1 h, then at rt overnight. DMF was evaporated and the residue was diluted with EtOAc and washed with 10% citric acid, 4% sodium carbonate, and brine. The organic phase was dried over MgSO₄ and evaporated. The corresponding dipeptide (4.0 g, 8.84 mmol, 92%) was obtained after flash chromatography CH₂Cl₂/MeOH (98/2). To a solution of all protected dipeptide in acetic acid was added Pd/C 10% (252 mg, 2.72 mmol) and the mixture was stirred under H₂ at rt overnight. The mixture was filtrated on celite, washed with EtOAc, and concentrated *in vacuo*. The unprotected dipeptide (+)-142 (2.39 g, 7.52 mmol, 85%) was purified by flash chromatography CH₂Cl₂/MeOH (95/5). $R_f = 0.23$ (5/95 MeOH/CH₂Cl₂); $[\alpha]_D^{20} = +43.0$ ($c = 1.0$, CHCl₃); IR ν_{max} (film, CH₂Cl₂) 3358, 2978, 2929, 1724, 1646, 1454, 1364, 1254, 1152, 1090, 910, 849, 756, 694 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.39 (s, 9H, 9×H9), 1.49 (m, 1H, 1×H4a), 1.71–1.90 (m, 3H, 2×H5, 1×H4b), 2.62 (m, 1H, 1×H10a), 2.74 (m, 2H, 2×H6), 3.44 (m, 1H, 1×H10b), 3.72 (dd, $J = 7.9, 6.8$ Hz, 1H, 1×H1), 4.18 (dd, $J = 8.3, 3.9$ Hz, 1H, 1×H3), 7.05–7.30 (m, 7H, 5×H_{ar}, NH₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 24.3 (CH₂, C5), 27.8 (3×CH₃, 3×C9), 28.7 (CH₂, C4), 42.0 (CH₂, C10), 46.4 (CH₂, C6), 54.7 (CH, C1), 59.3 (CH, C3), 81.0 (C, C8), 126.5 (CH, C14), 128.2 (2×CH, 2×C13), 129.2 (2×CH, 2×C12), 137.5 (C, C11), 171.1 (C, C7), 173.1 (C, C2); HRMS (ESI+) m/z found 369.1800. C₁₈H₂₆N₂O₄Na requires 369.1790.

(-)-(R)-tert-Butyl 1-((R)-2-amino-3-phenylpropanoyl)pyrrolidine-2-carboxylate [(-)-142]



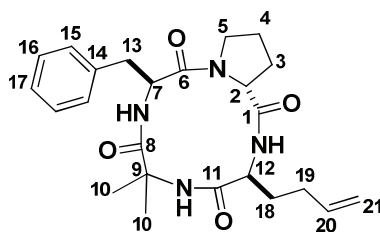
According to **Method N**, and starting with Z-D-Phe (3.0 g, 10.0 mmol) and H-L-Pro-*Ot*Bu (2.1 g, 10.0 mmol), the protected (3.90 g, 8.63 mmol, 92%) and unprotected peptide (–)-**142** (2.17 g, 6.82 mmol, 79%) were obtained. $[\alpha]_D^{20} = -42.6$ ($c = 1.0$, CHCl_3); **HRMS** (ESI+) m/z found 369.1800. $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ requires 369.1790.

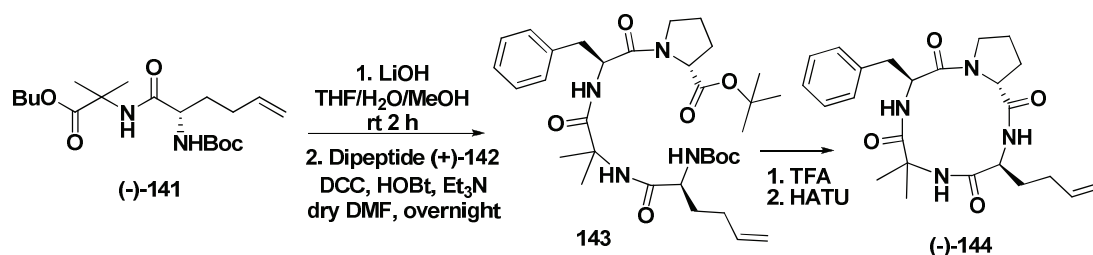
(+)-(R)-tert-Butyl 1-[(S)-2-amino-3-cyclohexylpropanoyl]pyrrolidine-2-carboxylate [(+)-158]



According to **Method N**, and starting with Z-L-Cha (1.0 g, 3.28 mmol) and H-D-Pro-*Ot*Bu (679 mg, 3.28 mmol) the corresponding protected dipeptide (1.4 g, 3.06 mmol, 93%) was obtained after flash chromatography $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (98/2). And the corresponding unprotected dipeptide (+)-**158** (964 mg, 2.98 mmol, 97%) was obtained after a flash chromatography $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (95/5). $R_f = 0.21$ (80/20 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = +67.2$ ($c = 1.0$, CHCl_3); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2974, 2925, 2851, 1723, 1638, 1442, 1364, 1217, 1148, 841 cm^{-1} ; **HRMS** (ESI+) m/z calc. for; **^1H NMR** (400 MHz, CDCl_3) δ 0.70–0.91 (m, 2H, 2×H12), 1.03 (m, 1H, 1×H12), 1.18 (m, 2H, 2×H4), 1.26 (m, 1H, 1×H12), 1.36 (s, 9H, 9×H9), 1.57 (m, 4H, 4×H13), 1.75 (m, 1H, 1×H3a), 1.79–1.92 (m, 3H, 2×H15, 1×H11), 2.04 (m, 2H, 2×H), 3.37 (m, 1H, 1×10a), 3.51 (m, 1H, 1×H5b), 3.60 (m, 1H, 1×10b), 4.01 (dd, $J = 14.3, 7.1$ Hz, 1H, 1×H1), 4.23 (dd, $J = 8.3, 3.4$ Hz, 1H, 1×H3), 4.42 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, NH_2); **^{13}C NMR** (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 24.6 (CH_2 , C5), 25.9 (CH_2 , C13a), 26.2 (CH_2 , C13b), 26.4 (CH_2 , C14), 27.9 (3× CH_3 , 3×C9), 28.9 (CH, C11), 32.5 (CH_2 , C4), 33.9 (CH_2 , C12a), 34.2 (CH_2 , C12b), 42.4 (CH_2 , C10), 46.8 (CH_2 , C6), 50.4 (CH, C1), 59.6 (CH, C3), 81.0 (C, C8), 171.3 (C, C2), 174.9 (C, C7); **LRMS** (ESI+) m/z (%) 325 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 269 (75), 649 (20); **HRMS** (ESI+) m/z found 347.2301. $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{NaO}_3$ requires 347.2305.

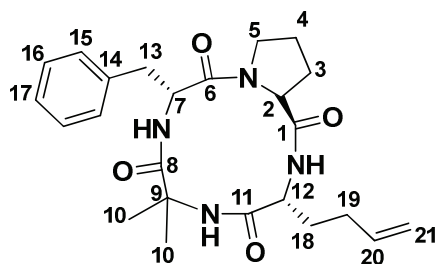
(–)-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Benzyl-3-(but-3-enyl)-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetraazacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(–)-144]



Method O: general procedure to obtain cyclopeptides, example with (–)-144

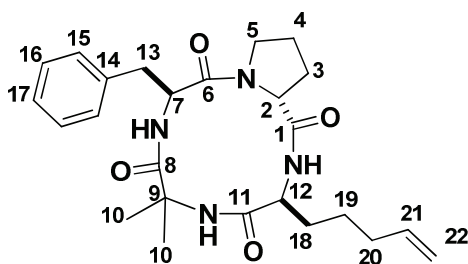
To a solution of the dipeptide (–)-141 (383 mg, 1.04 mmol) in THF/H₂O/MeOH 1/1/0.5 (10 mL) was added LiOH (55 mg, 1.25 mmol), the mixture was stirred at rt for 2 h. An aqueous solution of H₃PO₄ 5% was added until pH 3, and the organic phase was extracted with EtOAc, dried (MgSO₄) and evaporated to give the corresponding dipeptide unprotected. To a cooled solution of this dipeptide and (+)-142 (419 mg, 1.04 mmol) in dry DMF (5 mL) was added HOBt.H₂O (141 mg, 1.04 mmol), DCC (215 mg, 1.04 mmol) and Et₃N (0.11 mL, 1.04 mmol) and the mixture was stirred at rt overnight (18 h). DMF was evaporated and the residue was diluted with EtOAc and washed with 10% citric acid, 4% sodium carbonate, and brine. The organic phase was dried over MgSO₄ and evaporated. The residue was purified by flash chromatography cyclohexane/EtOAc (80/20) to give the corresponding tetrapeptide **143** (516 mg, 0.84 mmol, 81%); **HRMS (ESI+)** *m/z* found 637.3577. C₃₃H₅₀N₄O₇Na requires 637.3577. This tetrapeptide was dissolved in TFA (5 mL) at 0°C and stirred for 3 h at this temperature. After evaporation, the product was precipitated in dry ether to give after filtration the unprotected product. To a solution of this tetrapeptide trifluoro acetic acid (516 mg, 0.84 mmol), HATU (384 mg, 1.01 mmol), DIEA (0.5 mL) in DMF (50 mL) were added in five aliquots with a time interval of 30 min under vigorous stirring in DMF (50 mL). Then the reaction was stirred for 18 h at rt. The DMF was evaporated and EtOAc was added. After washing with a solution of 10% citric acid followed by 4% NaHCO₃, the organic phase was dried over MgSO₄ and evaporated. After flash chromatography cyclohexane/EtOAc (80/20), the cyclotetrapeptide (–)-144 (185 mg, 0.42 mmol, 50%), was isolated as a white foam. $[\alpha]_D^{20} = -110$ (*c* = 0.84, CHCl₃); **IR** *v*_{max} (film, CH₂Cl₂) 3303, 2930, 1678, 1663, 1630, 1663, 1529, 1427, 1251, 1181, 913 cm⁻¹; **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ ppm 1.31 (s, 3H, 3×H10a), 1.67–1.82 (m, 6H, 1×H3a, 1×H4a, 1×H18a, 3×H10b), 1.92 (m, 1H, 1×H18b), 2.09 (m, 2H, 2×H19), 2.16 (m, 1H, 1×H4b), 2.30 (m, 1H, 1×H3b), 2.94 (dd, *J* = 13.5, 5.8 Hz, 1H, 1×H13a), 3.19–3.28 (m, 2H, 1×H5a, 1×H13b), 3.86 (m, 1H, 1×H5b), 4.30 (ddd, *J* = 10.1, 7.5, 7.5 Hz, 1H, 1×H12), 4.66 (m, 1H, 1×H2), 4.97 (m, 1H, 1×H21a), 5.00 (m, 1H, 1×H21b), 5.17 (ddd, *J* = 10.1, 10.0, 5.8 Hz, 1H, 1×H7), 5.78 (ddt, *J* = 16.8, 10.2, 6.6 Hz, 1H, 1×H20), 6.18 (s, 1H, NH), 7.16–7.28 (m, 6H, 2×H15, 2×H16, 1×H17, NH), 7.61 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, NH); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ ppm 23.4 (CH₃, C10b), 24.6 (CH₂, C3), 24.8 (CH₂, C4), 26.3 (CH₃, C10a), 28.2 (CH₂, C19), 29.6 (CH₂, C18), 35.7 (CH₂, C13), 46.7 (CH₂, C5), 53.2 (CH, C7), 53.7 (CH, C12), 57.6 (CH, C2), 58.5 (C, C9), 115.5 (CH₂, C22), 126.5 (CH, C17), 128.4 (2×CH, 2×C15), 128.9 (2×CH, 2×C16), 136.9 (C, C14; CH, C20), 171.5 (C, C1), 172.6 (C, C6), 174.2 (C, C8), 175.4 (C, C11); **LRMS (ESI+)** *m/z* (%) 463 (100) [*M*+Na]⁺; **HRMS (ESI+)** *m/z* found 463.2316. C₂₄H₃₂N₄O₄Na requires 463.2321.

(+)-(3*R*,9*R*,14*aS*)-9-Benzyl-3-(but-3-enyl)-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2- α][1,4,7,10]tetraazacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(+)-144]



According to **Method O**, and starting from (+)-**141** (1.11 g, 3.06 mmol) and (–)-**142** (1.08 mg, 2.68 mmol), the corresponding tetrapeptide **148** (1.12 g, 1.82 mmol, 68 %); was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (80/20). **HRMS (ESI+)** m/z found 637.3577. $C_{33}H_{50}N_4O_7Na$ requires 637.3577. This tetrapeptide was converted into the corresponding cyclic peptide (+)-**144** (350 mg 0.93 mmol, 51%), which was obtained as a white foam after flash chromatography (80/20 cyclohexane/EtOAc). $[\alpha]_D^{20} = +109$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$); **HRMS (ESI+)** m/z found 463.2321. $C_{24}H_{32}N_4O_4Na$ requires 463.2321.

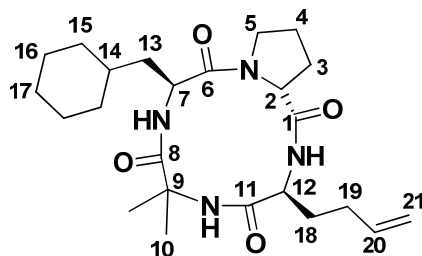
(–)-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Benzyl-3-(pent-3-enyl)-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2- α][1,4,7,10]tetraazacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(–)-154]



According to **Method O**, and starting from dipeptide (–)-**152** (157 mg, 0.40 mmol) and (+)-**142** (161 mg, 0.40 mmol) the corresponding tetrapeptide (220 mg, 0.35 mmol, 88%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30). **HRMS (ESI+)** m/z found 651.3721. $C_{34}H_{52}N_4O_7Na$ requires 651.3728. This tetrapeptide (220 mg, 0.38 mmol) was converted into cyclic peptide (–)-**154** (113.5 mg, 0.25 mmol, 58%) which was obtained after flash chromatography (70/30 cyclohexane/EtOAc). $R_f = 0.22$ (30/70 EtOAc/cyclohexane); $[\alpha]_D^{20} = -86.6$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3304, 2930, 1678, 1663, 1630, 1663, 1529, 1428, 1251, 1181, 914 cm^{-1} ; **1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ 1.33 (s, 3H, 3H, 3×H10a), 1.55 (m, 2H, 2×H20), 1.61–1.79 (m, 5H, 2×H4, 3×H10b), 1.84 (m, 1H, 1×H3a), 1.99 (m, 2H, 2×H19), 2.09 (m, 1H, 1×H18a), 2.23 (m, 1H, 1×H18b), 2.25 (m, 1H, 1×H3b), 2.85 (dd, $J = 13.5, 5.7$ Hz, 1H, 1×H13a), 3.10–3.20 (m, 2H, 1×H5a, 1×H13b), 3.76 (m, 1H, 1×H5b), 4.10 (ddd, $J = 10.3, 7.6, 7.6$ Hz, 1H, 1×H12), 4.56 (dd, $J = 7.7, 2.3$ Hz, 1H, 1×H2), 4.85–4.94 (m, 2H, 2×H22), 5.68 (ddd, $J = 10.1, 10.0, 5.8$ Hz, 1H, 1×H7), 5.80 (ddd, $J = 16.8, 10.2, 6.6$ Hz, 1H, 1×H21), 6.99 (s, 1H, NH), 7.07–7.22 (m, 6H, 2×H15, 2×H16, 1×H17, NH), 7.41 (d, $J = 10.26$ Hz, 1H, NH); **^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 23.7 (CH_3 , C10b), 24.7 (CH_2 , C3), 24.8 (CH_2 , C4), 24.9 (CH_2 , C20), 26.2 (CH_3 , C10a), 28.7 (CH_2 , C19), 33.3 (CH_2 , C18), 35.9 (CH_2 , C13), 46.8 (CH_2 , C5), 53.3 (CH, C7), 54.4 (CH, C12), 57.7 (CH, C2), 58.6 (C, C9), 115.1 (CH_2 , C22), 126.7 (CH, C17), 128.6 (2×CH, 2×C15), 129.1 (2×CH, 2×C16), 137.0 (C, C14), 138.0 (CH, C21), 172.0 (C, C1), 172.9

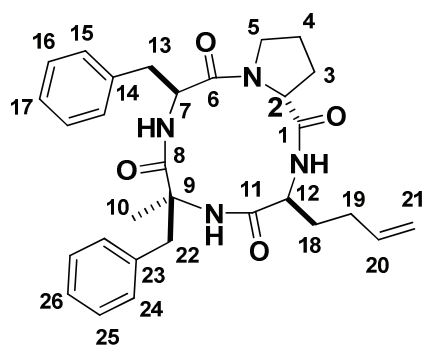
(C, C6), 174.5 (C, C8), 175.6 (C, C11); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 455 (100) $[M+H]^+$, 225 (5); **HRMS (ESI+)** m/z found 477.2469. $C_{25}H_{34}N_4O_4Na$ requires 477.2472.

(-)-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Cyclohexan-3-(but-3-enyl)-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2- α][1,4,7,10]tetra azacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(-)-155]



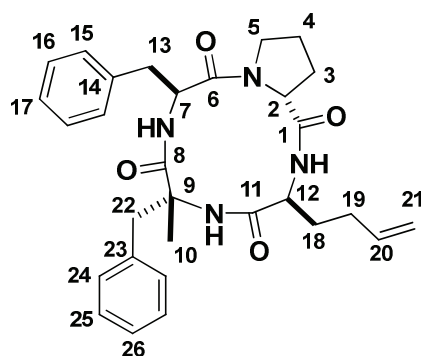
According to **Method O**, and starting from (-)-141 (120 mg, 0.32 mmol) and dipeptide Z-Cha-Pro-OtBu (+)-133 (131 mg, 0.32 mmol), the corresponding tetrapeptide (101 mg, 0.16 mmol, 50%) was obtained after flash chromatography (20/80 EtOAc/cyclohexane); **HRMS (ESI+)** m/z found 643.4037. $C_{33}H_{56}N_4NaO_7$ requires 643.4041. Starting from this tetrapeptide (183 mg, 0.32 mmol), the cyclic peptide (-)-155 (65 mg, 0.15 mmol, 47%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30). R_f = 0.23 (20/80 EtOAc/cyclohexane); $[\alpha]_D^{20}$ = -80.0 (c = 0.5, $CHCl_3$); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 330, 2921, 2852, 1650, 1630, 1585, 1458, 1380, 719 cm^{-1} ; **1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ 0.87–1.01 (m, 2H, 2 \times H4), 1.07–1.28 (m, 4H, 2 \times H19, 2 \times H17), 1.34 (s, 3H, 3 \times H10a), 1.54–1.63 (m, 2H, 1 \times H3a, 1 \times H5a), 1.64–1.75 (m, 5H, 4 \times H16, 1 \times H14), 1.77 (s, 3H, 3 \times H10b), 1.79–1.97 (m, 4H, 4 \times H15), 2.09 (m, 2H, 1 \times H3b, 1 \times H5b), 2.26 (m, 1H, 1 \times H18a), 2.39 (m, 1H, 1 \times H18b), 3.51 (ddd, J = 10.2, 7.4, 7.4 Hz, 1H, 1 \times H13a), 3.97 (ddd, J = 10.2, 8.4, 8.4 Hz, 1H, 1 \times H12), 4.23 (ddd, J = 10.3, 7.5, 7.5 Hz, 1H, 1 \times H13b), 4.74 (dd, J = 7.9, 2.0 Hz, 1H, 1 \times H2), 4.88–5.09 (m, 3H, 2 \times H21, 1 \times H7), 5.77 (ddd, J = 16.9, 10.2, 6.6 Hz, 1H, 1 \times H20), 5.92 (s, 1H, NH), 7.13 (d, J = 10.3 Hz, 1H, NH), 7.31 (d, J = 10.2 Hz, 1H, NH); **^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 23.8 (CH_2 , C4), 25.0 (CH_2 , C16a), 25.4 (CH_2 , C16b), 26.3 (CH_3 , C10a), 26.6 (CH_3 , C10b), 26.8 (CH_2 , C17), 28.3 (CH_2 , C19), 29.8 (CH_2 , C3), 33.4 (CH, C14), 33.5 (CH_2 , C18), 34.1 (CH_2 , C15a), 34.6 (CH, C15b), 37.1 (CH_2 , C13), 47.3 (CH_2 , C5), 50.3 (CH, C7), 54.0 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 115.9 (CH_2 , C22), 137.2 (CH, C20), 172.1 (C, C1), 173.7 (C, C6), 174.4 (C, C8), 175.8 (C, C11); **LRMS (ESI+)** 447 (100) $[M+H]^+$, 225 (80); **HRMS (ESI+)** m/z found 469.2781. $C_{24}H_{38}N_4O_4Na$ requires 469.2785.

(-)-(3*S*,6*S*,9*S*,14*aR*)-6,9-Dibenzyl-3-(but-3-enyl)-6-methyldecahydropyrrolo[1,2- α][1,4,7,10]tetra azacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(-)-156]



According to **Method O**, and starting from dipeptide (+)-**162** (610 mg, 1.51 mmol) in THF/H₂O (1/1) (20 mL) and dipeptide (+)-**142** (480 mg, 1.51 mmol), the tetrapeptide **163** (832 mg, 80%) was obtained after a flash chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30). **HRMS (ESI+)** m/z found 691.4065. C₃₉H₅₅N₄O₇ requires 691.4065. Starting from this tetrapeptide (150 mg, 0.22 mmol), the cyclotetrapeptide (–)-**156** (25 mg, 22%) was obtained after a flash chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30). R_f = 0.34 (60/40 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ = –134.7 (c = 0.7, CHCl₃); **IR** ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 3375, 1626, 1654, 1532, 1430, 1246, 993, 911 cm^{–1}; **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ ppm 1.22 (s, 3H, 3×H10), 1.75–1.92 (m, 4H, 2×H3, 2×H4), 2.01–2.27 (m, 1H, 1×H5a), 2.34–2.41 (m, 1H, 1×H18a), 3.14 (dd, J = 13.8, 7.0 Hz, 1H, 1×H18b), 3.29–3.42 (m, 2H, 2×H19), 3.42 (d, J = 13.9 Hz, 1H, 1×H13a), 3.70 (d, J = 13.9 Hz, 1H, 1×H13b), 3.87–3.95 (m, 3H, 1×H5b, 2×H22), 4.25–4.32 (m, 1H, 1×H2), 4.73–4.77 (m, 1H, 1×H12), 5.02–5.09 (m, 2H, 2×H21), 5.27–5.36 (m, 1H, 1×H7), 5.77–5.87 (m, 1H, 1×H20), 5.89 (bs, NH), 7.08–7.10 (m, 2H, 1×H17, 1×H26), 7.20 (d, J = 10.3 Hz, NH), 7.22–7.47 (m, 8H, 2×H15, 2×H16, 2×H24, 2×H25), 7.91 (d, J = 10.3 Hz, NH); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ ppm 23.4 (CH₃, C10), 25.3 (CH₂, C3), 27.1 (CH₂, C4), 28.5 (CH₂, C19), 29.8 (CH₂, C18), 36.0 (CH₂, C13), 40.7 (CH₂, C5), 47.2 (CH₂, C22), 53.6 (CH, C7), 54.1 (CH, C12), 58.1 (CH, C2), 62.9 (C, C9), 116.1 (CH₂, C21), 127.0 (CH, C17), 127.1 (CH, C26), 128.4 (2×CH, 2×C15), 128.9 (2×CH, 2×C16), 129.3 (2×CH, 2×C24), 130.4 (2×CH, 2×C25), 135.6 (C, C14), 137.2 (CH, C21), 137.3 (C, C23), 171.9 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.8 (C, C8), 175.4 (C, C11); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 517 (100) [$M+H$]⁺; **HRMS (ESI+)** m/z found 517.2808. C₃₀H₃₇N₄O₄ requires 517.2809.

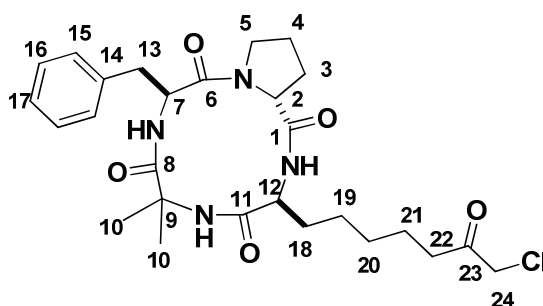
(–)-(3*S*,6*R*,9*S*,14*aR*)-6,9-Dibenzyl-3-(but-3-enyl)-6-methyldecahydropyrrolo[1,2- α][1,4,7,10]tetra-azacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(–)-**157**]



According to **Method O**, and starting from dipeptide (–)-**164** (504 mg, 1.25 mmol) in THF/H₂O (1/1) (20 mL) and dipeptide (+)-**142** (397 mg, 1.25 mmol), the tetrapeptide **165** (635 mg, 74%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30). **HRMS (ESI+)** m/z found 691.4060. requires C₃₉H₅₅N₄O₇ 691.4065. Starting from the tetrapeptide **165** (480 mg, 0.70 mmol), the cyclotetrapeptide (–)-**157** (80 mg, 36%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (20/80). R_f = 0.36 (40% EtOAc/cyclohexane); $[\alpha]_D^{20}$ = –41.5 (c = 1.4, CHCl₃); **IR** ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 3309, 2921, 2851, 1679, 1625, 1527, 1450, 1262, 739, 702 cm^{–1}; **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ ppm 1.65–1.86 (m, 6H, 3×H10, 2×H4, 1×H3a), 1.88–1.98 (m, 1H, 1×H3b), 2.02–2.21 (m, 3H, 2×H19, 1×H5a), 2.28–2.35 (m, 1H, 1×H18a), 2.99 (d, J = 14.1 Hz, 1H, 1×H18b), 3.01 (dd, J = 13.4, 5.7 Hz, 1H, 1×H13a), 3.19 (d, J = 14.1 Hz, 1H, 1×H13b), 3.22–3.34 (m, 2H, 2×H22), 3.80–3.87 (m, 1H, 1×H5b), 4.22 (dt, J = 15.1, 7.6 Hz, 1H, 1×H2), 4.66–4.71 (m, 1H, 1×H12), 4.94–4.98 (m, 1H, 1×H7), 4.99–5.01 (m, 1H, 1×H21a), 5.20 (dt, J = 10.1, 5.8 Hz, 1H, 1×H21b), 5.77 (ddt, J = 16.5, 10.8, 6.8 Hz, 1H, 1×H20), 6.10 (bs, NH), 7.08 (d, J = 10.3 Hz, NH), 7.23–7.42 (m, 10H, Har), 7.48 (d, J = 10.2 Hz, NH); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ ppm 22.1 (CH₃, C10), 25.0 (CH₂, C3), 27.1 (CH₂, C4), 28.1 (CH₂, C19), 29.9 (CH₂, C18), 36.1 (CH₂, C13), 44.0 (CH₂, C5), 47.0 (CH₂, C22), 53.8 (CH, C7), 53.9

(CH, C12), 58.0 (CH, C2), 61.8 (C, C9), 116.0 (CH₂, C21), 126.9 (CH, C17), 127.4 (CH, C26), 128.6 (2×CH, 2×C15), 128.8 (2×CH, 2×C16), 129.3 (2×CH, 2×C24), 131.2 (2×CH, 2×C25), 135.5 (C, C14), 137.1 (CH, C21), 137.2 (C, C23), 171.8 (C, C1), 172.9 (C, C6), 174.5 (C, C8), 175.8 (C, C11); **LRMS (ESI+)** *m/z* (%) 517 (100) [*M*+H]⁺; **HRMS (ESI+)** *m/z* found 517.2806. C₃₀H₃₇N₄O₄ requires 517.2809.

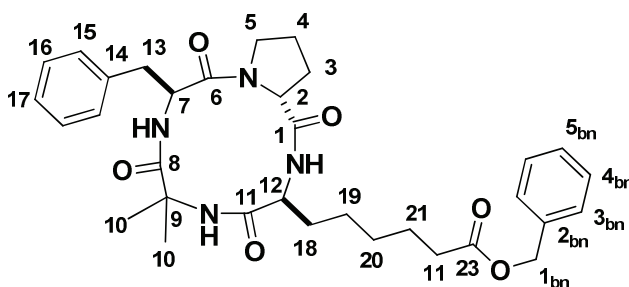
(–)-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Benzyl-3-(7-chloro-6-oxoheptyl)-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetra-azacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(–)-172]



Method P: general procedure to obtain (–)-172

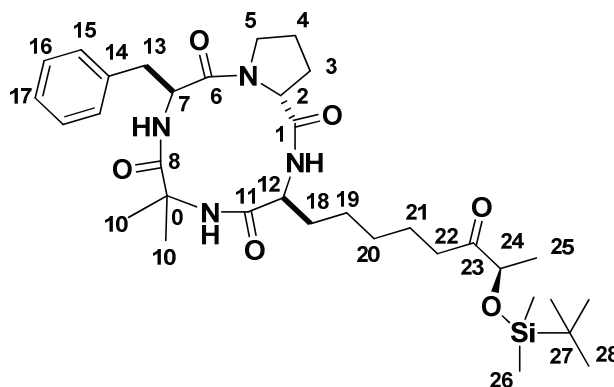
A solution of cyclotetrapeptide **(–)-144** (75 mg, 0.17 mmol) and carbonyl xanthate **166d** (72 mg, 0.34 mmol) in 1,2-dichloroethane (0.3 mL) was refluxed for 30 min under argon. Dilauroyl peroxide (7 mg) was added every 2 h (5 at 7 times). After completion (8 to 18 h at reflux), the solvent was removed *in vacuo* and the residue was directly purified by flash chromatography cyclohexane/EtOAc to give the intermediate xanthate (72 mg, 65%) as colorless laque; **HRMS (ESI+)** *m/z* found 675.2053. C₃₀H₄₁N₄O₆ClNaS₂ requires 675.2054. A solution of this intermediate (12 mg, 0.018 mmol) in isopropanol (1 mL) was refluxed for 5 h with DLP (11 mg, 0.027 mmol). After evaporation and direct flash chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30), the product **(–)-171** (9 mg, 92%) was obtained as colourless laque; *R_f* = 0.07 (60/40 cyclohexane/EtOAc); [*α*]_D²⁰ = –80 (c = 1.0, CHCl₃); **IR** *v*_{max} (**film**, CH₂Cl₂) 3304, 2928, 1733, 1678, 1663, 1628, 1525, 1434, 1390, 1179 cm^{–1}; **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ ppm 1.29–1.34 (m, 7H, 2×H20, 2×H19, 3×H10a), 1.63 (m, 2H, 2×H21), 1.69–1.87 (m, 7H, 1×H3a, 2×H18, 1×H4a, 3×H10b), 2.17 (m, 1H, 1×H4b), 2.32 (m, 1H, 1×H3b), 2.56 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, 2×H22), 2.95 (dd, *J* = 13.5, 5.7 Hz, 1H, 1×H13a), 3.21 (dd, *J* = 10.0, 7.0 Hz, 1H, 1×H5a), 3.26 (dd, *J* = 13.5, 10.0 Hz, 1H, 1×H13b), 3.86 (m, 1H, 1×H5b), 4.07 (s, 2H, 2×H24), 4.19 (ddd, *J* = 10.2, 7.6, 7.6 Hz, 1H, 1×H12), 4.67 (m, 1H, 1×H2), 5.16 (ddd, *J* = 10.1, 10.0, 5.7 Hz, 1H, 1×H7), 5.95 (s, 1H, NH), 7.11 (bd, *J* = 10.1 Hz, 1H, NH), 7.19–7.29 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.51 (bd, *J* = 10.1 Hz, 1H, NH); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ ppm 23.4 (CH₂, C21), 23.7 (CH₃, C10a), 24.9 (CH₂, C3), 25.2 (CH₂, C4), 25.4 (CH₂, C19), 26.7 (CH₃, C10b), 28.8 (CH₂, C18), 28.9 (CH₂, C20), 36.0 (CH₂, C13), 39.6 (CH₂, C22), 47.1 (CH₂, C5), 48.3 (CH₂, C24), 53.6 (CH, C7), 54.4 (CH, C12), 57.9 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.2 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, C14), 172.0 (C, C1), 173.0 (C, C6), 175.0 (C, C11), 175.8 (C, C8), 202.7 (C, C23); **LRMS (ESI+)** *m/z* (%) 555 (100) [*M*+Na]⁺, 533 (10); **HRMS (ESI+)** *m/z* found 555.2343. C₂₇H₃₇N₄O₅ClNa requires 555.2350.

(-)-Benzyl-6-((3*S*,9*S*,14*aR*)-9-benzyl-6,6-dimethyl-1,4,7,10-tetraoxotetradécahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetra-azacyclododecin-3-yl)hexanoate [(-)-167]



According to **Method P**, and starting from (-)-144 (100 mg, 0.23 mmol) and xanthate **166a** (92 mg, 0.34 mmol), the intermediate xanthate (145 mg, 90%) was obtained. Starting from following intermediate (124 mg, 0.17 mmol), the product (-)-167 (69 mg, 69%) was obtained after flash chromatography CH₂Cl₂/MeOH (99/1) as colourless laque. $R_f = 0.17$ (60/40 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -75$ ($c = 1.4$, CHCl₃); IR ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 3309, 2934, 1735, 1678, 1663, 1629, 1525, 1424, 1257, 1173 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.25–1.40 (m, 7H, 2×H20, 2×H19, 3×H10a), 1.65 (m, 2H, 2×H21), 1.72 (m, 1H, 1×H3a), 1.77–1.87 (m, 6H, 2×H18, 1×H4a, 3×H10b), 2.17 (m, 1H, 1×H4b), 2.29 (m, 1H, 1×H3b), 2.35 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, 2×H22), 2.95 (dd, $J = 13.5, 5.7$ Hz, 1H, 1×H13a), 3.19–3.29 (m, 2H, 1×H13b, 1×H5a), 3.86 (ddd, $J = 10.3, 8.6, 4.6$ Hz, 1H, 1×H5b), 4.18 (ddd, $J = 10.2, 7.6, 7.6$ Hz, 1H, 1×H12), 4.65 (m, 1H, 1×H2), 5.11 (s, 2H, 2×H1_{bn}), 5.16 (ddd, $J = 10.2, 10.1, 5.7$, 1H, 1×H7), 5.90 (s, 1H, NH), 7.09 (bd, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH), 7.17–7.40 (m, 10H, 2×H3_{bn}, 2×H4_{bn}, 1×H5_{bn}, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.51 (bd, $J = 10.3$ Hz, 1H, NH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 23.7 (CH₃, C10b), 24.86 (CH₂, C3), 24.93 (CH₂, C19), 25.2 (CH₂, C4), 25.4 (CH₂, C21), 26.7 (CH₃, C10a), 28.9 (2×CH₂, C20, C18), 34.3 (CH₂, C22), 36.0 (CH₂, C13), 47.2 (CH₂, C5), 53.6 (CH, C7), 54.5 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 66.3 (CH₂, C1_{bn}), 126.9 (CH, C17), 128.4 (3×CH, 2×C15, C5_{bn}), 128.7 (2×CH, 2×C3_{bn}), 128.8 (2×CH, 2×C16), 129.2 (2×CH, 2×C4_{bn}), 136.2 (C, C2_{bn}), 137.2 (C, C14), 172.0 (C, C1), 173.0 (C, C6), 173.6 (C, C23), 174.5 (C, C11), 175.8 (C, C8); LRMS (ESI+) m/z (%) 613 (100) [$M+Na$]⁺, 591 (18); HRMS (ESI+) m/z found 613.2991. C₃₃H₄₂N₄O₆Na requires 613.3002.

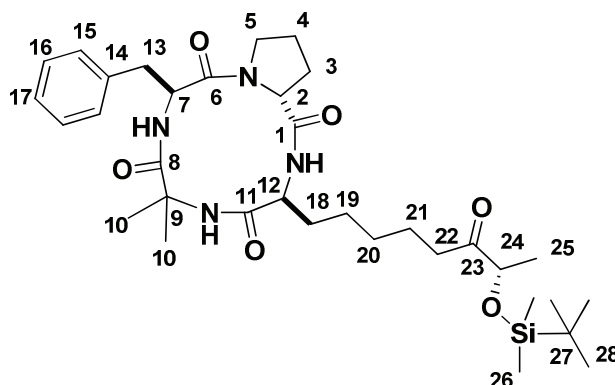
(-)-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Benzyl-3-[(*R*)-7-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-6-oxooctyl]-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetra-azacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(-)-177]



According to **Method P**, and starting from (-)-144 (60 mg, 0.136 mmol) and xanthate **166g** (110 mg, 0.34 mmol), the intermediate xanthate (100 mg, 96%) was obtained. Starting from this intermediate (71 mg, 0.093 mmol), the product (-)-177 (36 mg, 60%) was obtained after flash chromatography

CH₂Cl₂/MeOH (92/8) as colourless laque. $R_f = 0.32$ (60/40 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -47$ ($c = 2.3$, CHCl₃); IR ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 3520, 3314, 2925, 2853, 1716, 1678, 1630, 1525, 1427, 1246, 1165, 1117, 836 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.07 (s, 6H, 6×H26), 0.91 (s, 9H, 9×H28), 1.26–1.34 (m, 7H, 3×H25, 2×H19, 2×H20), 1.34 (s, 3H, 3×H10a), 1.55–1.73 (m, 4H, 1×H18a, 1×H3a, 2×H21), 1.75 (m, 2H, 1×H18b, 1×H4a), 1.77 (s, 3H, 3×H10b), 2.17 (m, 1H, 1×H4b), 2.32 (m, 1H, 1×H3b), 2.47–2.64 (m, 2H, 2×H22), 2.95 (dd, $J = 13.5, 5.7$ Hz, 1H, 1×H13a), 3.21 (m, 1H, 1×H5a), 3.26 (dd, $J = 13.5, 10.1$ Hz, 1H, 1×H13b), 3.86 (m, 1H, 1×H5b), 4.13 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, 1×H24), 4.19 (ddd, $J = 10.1, 7.6, 7.6$ Hz, 1H, 1×H12), 4.66 (bd, $J = 7.8$ Hz, 1H, 1×H2), 5.16 (m, 1H, 1×H7), 6.03 (s, 1H, NH), 7.12 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH), 7.18–7.29 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.55 (bd, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm -4.8 (CH₃, C26a), -4.5 (CH₃, C26b), 18.2 (C, C27), 21.1 (CH₃, C25), 22.9 (CH₂, C21), 23.2 (CH₂, C19), 23.8 (CH₃, C10b), 25.0 (CH₂, C3), 25.2 (CH₂, C4), 26.0 (3×CH₃, 3×C28), 26.7 (CH₃, C10a), 29.8 (CH₂, C20), 29.9 (CH₂, C18), 36.0 (CH₂, C13), 36.9 (CH₂, C22), 47.2 (CH₂, C5), 53.7 (CH, C7), 54.6 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 75.1 (CH, C24), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.3 (2×CH, 2×C16), 137.3 (C, C14), 172.0 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.6 (C, C11), 175.9 (C, C8), 214.4 (C, C23); LRMS (ESI+) m/z (%) 665 (17) [M+Na]⁺, 551 (100); HRMS (ESI+) m/z found 665.3717. C₃₄H₅₄N₄O₆NaSi requires 665.3710.

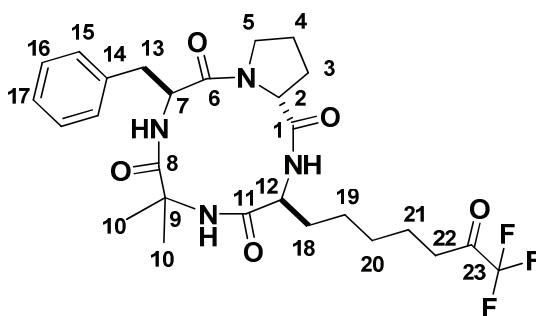
(-)-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Benzyl-3-[(*S*)-7-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-6-oxooctyl]-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetra-azacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(-)-175]



According to **Method P**, starting from (-)-144 (80 mg, 0.18 mmol) and xanthate **166f** (145 mg, 0.45 mmol), the intermediate xanthate (126 mg, 95%) was obtained. Starting from following intermediate (114 mg, 0.15 mmol) the product (-)-175 (57 mg, 59 %) was obtained after flash chromatography CH₂Cl₂/MeOH (92/8) as colourless laque. $R_f = 0.32$ (40/60 EtOAc/cyclohexane); $[\alpha]_D^{20} = -77.8$ ($c = 1.1$, CHCl₃); IR ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 3515, 3311, 2920, 2850, 1718, 1677, 1631, 1526, 1427, 1251, 1170, 1117, 835 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.07 (s, 6H, 6×H26), 0.91 (s, 9H, 9×H28), 1.25–1.34 (m, 10H, 3×H25, 2×H19, 2×H20, 3×H10a), 1.55 (m, 2H, 1×H18a, 1×H3a), 1.63 (m, 2H, 2×H21), 1.76 (m, 2H, 1×H18b, 1×H4a), 1.77 (s, 3H, 3×H10b), 2.17 (m, 1H, 1×H4b), 2.32 (m, 1H, 1×H3b), 2.47–2.64 (m, 2H, 2×H22), 2.95 (dd, $J = 13.5, 5.7$ Hz, 1H, 1×H13a), 3.21 (m, 1H, 1×H5a), 3.26 (dd, $J = 13.5, 10.1$ Hz, 1H, 1×H13b), 3.86 (m, 1H, 1×H5b), 4.13 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, 1×H24), 4.20 (ddd, $J = 10.1, 7.6, 7.6$ Hz, 1H, 1×H12), 4.67 (bd, $J = 7.6$ Hz, 1H, 1×H2), 5.17 (m, 1H, 1×H7), 6.11 (bs, 1H, NH), 7.15 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH), 7.18–7.29 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.57 (bd, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm -4.9 (CH₃, C26a), -4.5 (CH₃, C26b), 18.2 (C, C27), 21.1 (CH₃, C25), 22.9 (CH₂, C21), 23.1 (CH₂, C19), 23.8 (CH₃, C10b), 24.9 (CH₂, C3), 25.2

(CH₂, C4), 25.9 (3×CH₃, 3×C28), 26.6 (CH₃, C10a), 29.8 (CH₂, C20), 29.9 (CH₂, C18), 36.0 (CH₂, C13), 36.9 (CH₂, C22), 47.1 (CH₂, C5), 53.6 (CH, C7), 54.6 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 58.9 (C, C8), 75.1 (CH, C24), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.2 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, C14), 172.0 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.5 (C, C11), 175.8 (C, C8), 214.3 (C, C23); LRMS (ESI+) *m/z* (%) 665 (100) [*M*+Na]⁺, 643 (30); HRMS (ESI+) *m/z* found 665.3705. C₃₄H₅₄N₄O₆NaSi requires 665.3710.

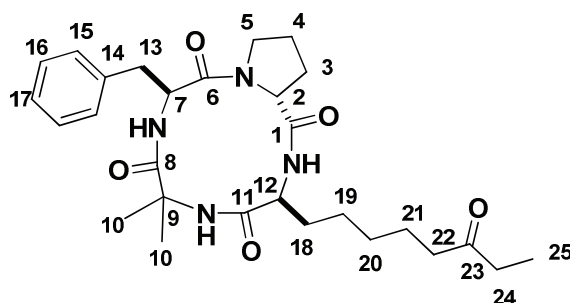
(–)-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Benzyl-6,6-dimethyl-3-(7,7,7-trifluoro-6-oxoheptyl)decahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetra-azacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(–)-173]



Method Q: general « one pot » procedure to convert (–)-144 into (–)-173

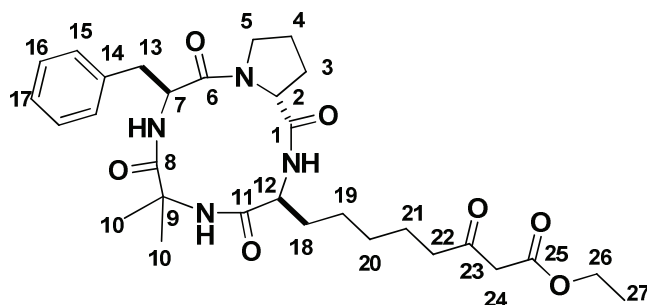
A solution of cyclotetrapeptide (–)-144 (31 mg, 0.07 mmol) and carbonyl xanthate **166e** (45 mg, 0.14 mmol) in 1,2-dichloroethane (0.2 mL) was refluxed for 30 min under argon. Dilauroyl peroxide (3 mg) was added every 2 h (5 to 7 times). After completion (18 h reflux), the solvent was removed *in vacuo* and isopropanol (1.5 mL) was added. After being refluxed for 30 min under argon, DLP (28 mg, 0.07 mmol) was added and the solution was refluxed for 1 h. Additional DLP (14 mg, 0.035 mmol) was then added again and the solution was refluxed for 3 h. After evaporation, the residue was directly purified by flash chromatography cyclohexane/EtOAc (65/35) to give produit (–)-173 (22 mg, 48%). *R_f* = 0.08 (60/40 cyclohexane/EtOAc); [*α*]_D²⁰ = –71 (c = 0.44, CHCl₃); IR *v*_{max} (film, CH₂Cl₂) 3307, 2925, 1763, 1683, 1666, 1631, 1529, 1435, 1206, 1174 cm^{–1}; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.25–1.36 (m, 7H, 2×H19, 2×H20, 3×H10a), 1.56–1.72 (m, 4H, 1×H3a, 2×H21, 1×H18a), 1.77 (m, 2H, 1×H18b, 1×H4a), 1.77 (s, 3H, 3×H10b), 2.18 (m, 1H, 1×H4b), 2.33 (m, 1H, 1×H3b), 2.71 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, 2×H22), 2.95 (dd, *J* = 13.5, 5.7 Hz, 1H, 1×H13a), 3.22 (m, 1H, 1×H5a), 3.26 (dd, *J* = 13.5, 10.1 Hz, 1H, 1×H13b), 3.87 (m, 1H, 1×H5b), 4.19 (m, 1H, 1×H12), 4.66 (bd, *J* = 7.8 Hz, 1H, 1×H2), 5.17 (ddd, *J* = 10.1, 10.1, 5.7 Hz, 1H, 1×H7), 5.92 (s, 1H, NH), 7.12 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, NH), 7.19–7.31 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.49 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, NH); LRMS (ESI+) *m/z* (%) 575 (100) [*M*+Na]⁺, 437 (12); HRMS (ESI+) *m/z* found 575.2442. C₂₇H₃₅N₄O₅F₃Na requires 575.2457.

(–)-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Benzyl-6,6-dimethyl-3-(6-oxooctyl)decahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetra-azacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(–)-170]



According to **Method Q** and starting from (–)-144 (19 mg, 0.043 mmol) and carboxylic xanthate **166b** (16 mg, 0.085 mmol), product (–)-170 (11 mg, 0.022 mmol, 50%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30) as colorless laque. $R_f = 0.1$ (60/40 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -65.0$ ($c = 0.47$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 2923, 1716, 1683, 1540, 1522, 1457, 1177 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.05 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, 3×H25), 1.25–1.34 (m, 4H, 2×H19, 2×H20), 1.34 (s, 3H, 3×H10a), 1.51–1.70 (m, 4H, 1×H3a, 2×H21, 1×H18a), 1.77 (m, 2H, 1×H18b, 1×H4a), 1.77 (s, 3H, 3×H10b), 2.18 (m, 1H, 1×H4b), 2.32 (m, 1H, 1×H3b), 2.39 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, 2×H22), 2.41 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H, 2×H24), 2.95 (dd, $J = 13.5, 5.7$ Hz, 1H, 1×H24a), 3.22 (m, 1H, 1×H5a), 3.26 (dd, $J = 13.5, 9.9$ Hz, 1H, 1×H24b), 3.86 (m, 1H, 1×H5b), 4.18 (m, 1H, 1×H12), 4.66 (bd, $J = 8.0$ Hz, 1H, 1×H2), 5.16 (ddd, $J = 10.1, 10.1, 5.8$ Hz, 1H, 1×H7), 5.89 (s, 1H, NH), 7.08 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH), 7.18–7.31 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.51 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.1 (CH_3 , C25), 23.8 (CH_3 , C10b), 25.0 (CH_2 , C21), 25.2 (CH_2 , C4), 25.6 (CH_2 , C19), 26.7 (CH_3 , C10a), 29.0 (CH_2 , C18), 29.1 (CH_2 , C20), 29.9 (CH_2 , C3), 36.0 (CH_2 , C13), 36.1 (CH_2 , C22), 42.4 (CH_2 , C24), 47.2 (CH_2 , C5), 53.6 (CH, C7), 54.5 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.2 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, 14), 172.0 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.6 (C, C11), 175.9 (C, C8), 211.8 (C, C23); LRMS (ESI+) m/z (%) 535 (100) $[M+\text{Na}]^+$, 437 (33); HRMS (ESI+) m/z found 535.2896. $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_5\text{Na}$ requires 535.2896.

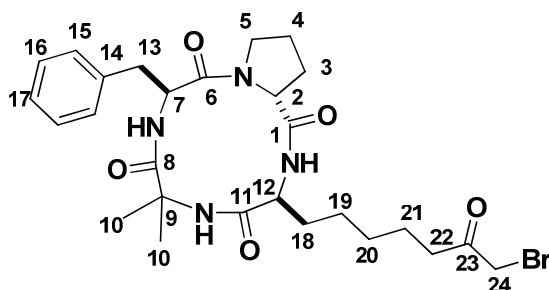
(–)-Ethyl-8-[(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Benzyl-6,6-dimethyl-1,4,7,10-tetra-oxotetradecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetra-azacyclododecin-3-yl]-3-oxooctanoate [(–)-171]



According to **Method Q** and starting from (–)-144 (20 mg, 0.045 mmol) and carboxylic xanthate **166c** (22 mg, 0.091 mmol), product (–)-171 (13 mg, 0.023 mmol) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (65/35) as colourless laque, 52% yield. $R_f = 0.25$ (60/40 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -71.0$ ($c = 0.68$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3305, 2928, 1741, 1714, 1681, 1666, 1629, 1529, 1434, 1315, 1232, 1178, 1030 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, 3×H27), 1.25–1.34 (m, 4H, 2×H19, 2×H20), 1.34 (s, 3H, 3×H10a), 1.54–1.67 (m, 4H, 1×H3a, 2×H21,

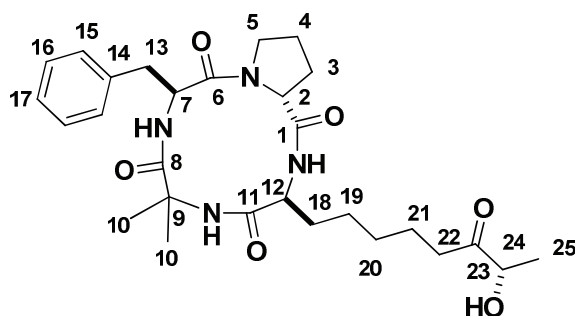
1×H18a), 1.77 (m, 2H, 1×H18b, 1×H4a), 1.77 (s, 3H, 3×H10b), 2.17 (m, 1H, 1×H4b), 2.32 (m, 1H, 1×H3b), 2.53 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, 2×H22), 2.95 (dd, $J = 13.5, 5.7$ Hz, 1H, 1×H13a), 3.23 (m, 1H, 1×H5a), 3.26 (dd, $J = 13.4, 10.0$ Hz, 1H, 1×H13b), 3.42 (s, 2H, 2×H24), 3.86 (m, 1H, 1×H5a), 4.17 (m, 1H, 1×H12), 4.20 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, 2×H26), 4.66 (bd, $J = 7.8$ Hz, 1H, 1×H2), 5.16 (ddd, $J = 10.1, 10.1, 5.8$ Hz, 1H, 1×H7), 5.92 (s, 1H, NH), 7.09 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH), 7.19-7.32 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.51 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.3 (CH_3 , C27), 23.3 (CH_2 , C21), 23.8 (CH_3 , C10b), 25.0 (CH_2 , C3), 25.2 (CH_2 , C4), 25.5 (CH_2 , C19), 26.7 (CH_3 , C10a), 28.8 (CH_2 , C20), 28.9 (CH_2 , C18), 36.0 (CH_2 , C13), 43.0 (CH_2 , C22), 47.2 (CH_2 , C5), 49.5 (CH_2 , C24), 53.6 (CH, C7), 54.5 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 61.6 (CH_2 , C26), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.2 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, C14), 167.4 (C, C25), 172.0 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.5 (C, C11), 175.8 (C, C8), 202.9 (C, C23); LRMS (ESI+) m/z (%) 593 (100) [$M+\text{Na}$] $^+$, 521 (20); HRMS (ESI+) m/z found 593.2942. $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_7\text{Na}$ requires 593.2951.

(3S,9S,14aR)-9-Benzyl-3-(7-bromo-6-oxoheptyl)-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2-a][1,4,7,10]tetra-azacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(-)-174]



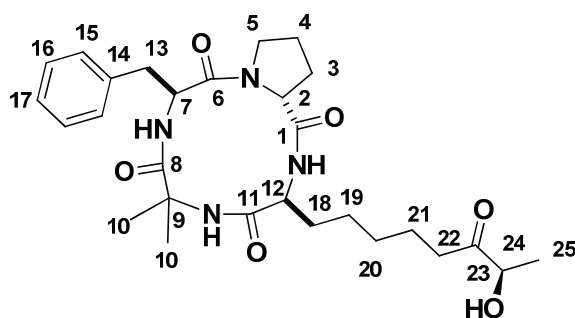
LiBr (23 mg, 0.27 mmol) was added to the solution of (–)-144 (7.1 mg, 0.013 mmol) in acetone (1 mL). The mixture was stirred in darkness for 5 days. The solvent was removed *in vacuo* and EtOAc was added. The organic layer was washed with water, and dried over MgSO_4 . After evaporation, the residue was purified by flash chromatography $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (98/2) to give the product (–)-174 (6 mg, 75%) as colorless laque. $R_f = 0.07$ (60/40 cyclohexane/EtOAc); IR ν_{max} (thin film, CH_2Cl_2) 3486, 3282, 2926, 2856, 1683, 1620, 1525, 1427, 1263, 1176, 732 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.27–1.34 (m, 4H, 2×H20, 2×H19), 1.34 (s, 3H, 3×H10a), 1.62 (m, 2H, 2×H21), 1.70–1.83 (m, 7H, 1×H3a, 2×H18, 1×H4a, 3×H10b), 2.17 (m, 1H, 1×H4b), 2.32 (m, 1H, 1×H3b), 2.65 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, 2×H22), 2.95 (dd, $J = 13.5, 5.7$ Hz, 1H, 1×H13a), 3.24 (m, 1H, 1×H5a), 3.26 (dd, $J = 13.5, 10.0$ Hz, 1H, 1×H13b), 3.86 (m, 1H, 1×H5b), 3.88 (s, 2H, 2×H24), 4.18 (ddd, $J = 10.2, 7.6, 7.6$ Hz, 1H, 1×H12), 4.65 (bd, $J = 7.8$ Hz, 1H, NH_C), 5.16 (ddd, $J = 10.1, 10.0, 5.7$ Hz, 1H, 1×H7), 5.93 (s, 1H, NH), 7.11 (bd, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH), 7.19-7.31 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.51 (bd, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 23.7 (CH_3 , C10b), CH_2 , C21), 25.0 (CH_2 , C3), 25.2 (CH_2 , C4), 25.5 (CH_2 , C19), 26.7 (CH_3 , C10a), 28.8 (CH_2 , C18), 28.9 (CH_2 , C20), 34.5 (CH_2 , C24), 36.0 (CH_3 , C13), 39.8 (CH_2 , C22), 47.2 (CH_2 , C5), 53.6 (CH, C7), 54.5 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.3 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, C14), 172.1 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.5 (C, C11), 175.8 (C, C8), 202.2 (C, C23); LRMS (ESI+) m/z (%) 602 (30) [$M+\text{Na}$] $^+$, 601 (100) [$M+\text{Na}$] $^+$, 600 (30) [$M+\text{Na}$] $^+$, 599 (100) [$M+\text{Na}$] $^+$, 555 (30). HRMS (ESI+) m/z found 599.1838. $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}_5\text{BrNa}$ requires 599.1845.

(–)-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Benzyl-3-[(*R*)-7-hydroxy-6-oxooctyl]-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetraazacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(–)-176]



Three drops of TBAF (1 M in THF) were added to a solution of (–)-175 (13 mg, 0.020 mmol) in THF (1 mL). The mixture was stirred for 30 min at rt. After evaporation, the residue was directly purified by flash chromatography CH₂Cl₂/MeOH (98/2) to give (–)-176 (8 mg, 78%); *R_f* = 0.16 (98/2 CH₂Cl₂/MeOH); [α]_D²⁰ = –65.3 (*c* = 0.98, CHCl₃); IR ν_{max} (thin film, CH₂Cl₂) 3288, 2920, 2850, 1710, 1666, 1625, 1523, 1426, 1368, 1187, 732 cm^{–1}; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.25–1.35 (m, 4H, 2×H19, 2×H20), 1.34 (s, 3H, 3×H10a), 1.38 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H, 3×H25), 1.62–1.69 (m, 4H, 1×H3a, 2×H21, H18a), 1.77 (m, 2H, 1×H18b, 1×H4a), 1.77 (m, 3H, 3×H10b), 2.17 (m, 1H, 1×H4b), 2.32 (m, 1H, 1×H3b), 2.38–2.58 (m, 2H, 2×H22), 2.95 (dd, *J* = 13.5, 5.7 Hz, 1H, 1×H13a), 3.22 (m, 1H, 1×H5a), 3.26 (dd, *J* = 13.5, 10.1 Hz, 1H, 1×H13b), 3.86 (m, 1H, 1×H5b), 4.19 (m, 1H, 1×H12), 4.22 (q, *J* = 7.1 Hz, 1H, 1×H24), 4.67 (bd, *J* = 7.7 Hz, 1H, 1×H2), 5.16 (ddd, *J* = 10.1, 10.1, 5.8 Hz, 1H, 1×H7), 6.12 (bs, 1H, NH), 7.17 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, NH), 7.20–7.30 (m, 5H, m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.54 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, NH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 20.1 (CH₃, C25), 23.5 (CH₂, C21), 23.8 (CH₃, C10b), 25.0 (CH₂, C3), 25.2 (CH₂, C4), 25.4 (CH₂, C19), 26.7 (CH₃, C10a), 28.9 (CH₂, C18), 29.0 (CH₂, C20), 36.0 (CH₂, C13), 37.5 (CH₂, C22), 47.2 (CH₂, C5), 53.7 (CH, C7), 54.5 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 72.8 (CH, C24), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.2 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, C14), 172.1 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.5 (C, C11), 175.8 (C, C8), 212.6 (C, C23); LRMS (ESI+) *m/z* (%) 551 (100) [*M*+Na]⁺, 529 (10); HRMS (ESI+): *m/z* found 551.2847. C₂₈H₄₀N₄O₆Na requires 551.2846.

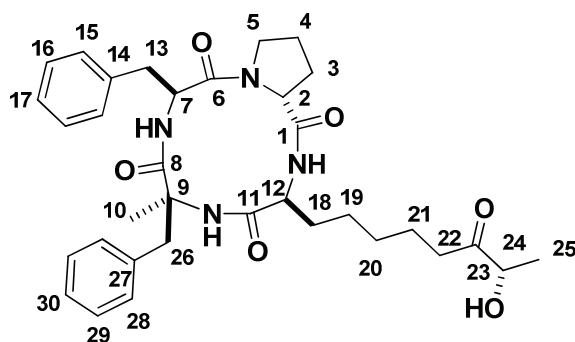
(–)-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-benzyl-3-[(*S*)-7-hydroxy-6-oxooctyl]-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetraazacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(–)-178]



Five drops of TBAF (1 M in THF) were added to a solution of (–)-177 (22 mg, 0.033 mmol) in THF (1.5 mL). The mixture was stirred for 30 min at rt. After evaporation, the residue was directly purified by flash chromatography CH₂Cl₂/MeOH (98/2) to give (–)-178 (14 mg, 78%). *R_f* = 0.09 (60/40 cyclohexane/EtOAc); [α]_D²⁰ = –98.0 (*c* = 0.98, CHCl₃); IR ν_{max} (thin film, CH₂Cl₂) 3290, 2925, 2840, 1716, 1666, 1625, 1525, 1424, 1188, 732 cm^{–1}; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.26–1.35 (m, 4H,

2×H19, 2×H20), 1.34 (s, 3H, 3×H10a), 1.38 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, 3×H25), 1.60–1.69 (m, 4H, 1×H3a, 2×H21, H18a), 1.77 (m, 2H, 1×H18b, 1×H4a), 1.77 (s, 3H, 3×H10b), 2.18 (m, 1H, 1×H4b), 2.33 (m, 1H, 1×H3b), 2.40–2.57 (m, 2H, 2×H22), 2.95 (dd, $J = 13.5, 5.7$ Hz, 1H, 1×H13a), 3.21 (m, 1H, 1×H5a), 3.27 (dd, $J = 13.5, 10.1$ Hz, 1H, 1×H13b), 3.86 (m, 1H, 1×H5b), 4.19 (m, 1H, 1×H12), 4.24 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H, 1×H24), 4.66 (bd, $J = 7.7$ Hz, 1H, 1×H2), 5.17 (ddd, $J = 10.1, 10.1, 5.8$ Hz, 1H, 1×H7), 6.00 (s, 1H, NH), 7.13 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH), 7.18–7.30 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.51 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 20.1 (CH_3 , C25), 23.5 (CH_2 , C21), 23.8 (CH_3 , C10b), 25.0 (CH_2 , C3), 25.2 (CH_2 , C4), 25.4 (CH_2 , C19), 26.7 (CH_3 , C10a), 28.9 (CH_2 , C18), 29.0 (CH_2 , C20), 36.0 (CH_2 , C13), 37.5 (CH_2 , C22), 47.2 (CH_2 , C5), 53.7 (CH , C7), 54.5 (CH , C12), 58.0 (CH , C2), 59.0 (C, C9), 72.8 (CH , C24), 126.9 (CH , C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.2 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, C14), 172.1 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.5 (C, C11), 175.8 (C, C8), 212.6 (C, C23); LRMS (ESI+) m/z (%) 551 (45) $[M+\text{Na}]^+$, 242 (100); HRMS (ESI+) m/z found 551.2847. $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_6\text{Na}$ requires 551.2846.

(–)-(3*S*,6*S*,9*S*,14*aR*)-6,9-dibenzyl-3-[(*R*)-7-hydroxy-6-oxooctyl]-6-methyldecahydropyrrolo[1,2- α][1,4,7,10]teraazacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(–)-185]

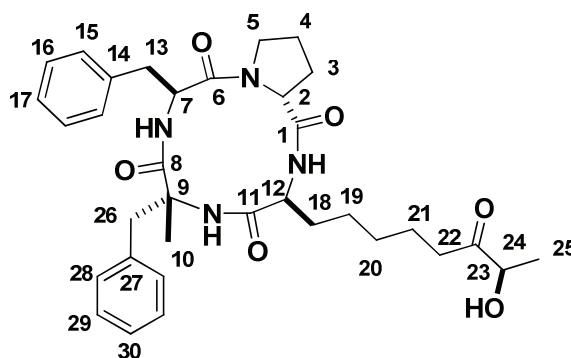


Method R: general procedure to convert (–)-156 into (–)-185

A solution of cyclotetrapeptide (–)-156 (87 mg, 0.17 mmol) and carbonyl xanthate **166g** (109 mg, 0.34 mmol) in 1,2-dichloroethane (0.3 mL) was refluxed for 30 min under argon. Dilauroyl peroxide (DLP, 8 mg) was added every 1 h (5 to 7 times). After refluxing overnight, the solvent was removed *in vacuo* and the residue was directly purified by flash chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30) to give xanthate intermediate (82 mg, 58%) as colourless laque. $R_f = 0.35$ (60/40 cyclohexane/EtOAc); LRMS (ESI+) m/z (%) 839 (100) $[M+H]^+$; HRMS (ESI+) m/z found 839.3892. $\text{C}_{43}\text{H}_{63}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}_2\text{Si}$ requires 839.3902. A solution of this intermediate (75 mg, 0.09 mmol) in isopropanol (4 mL) was refluxed for 5 h with DLP (50 mg). After evaporation and direct flash chromatography (60/40 cyclohexane/EtOAc), the silylated intermediate (40 mg, 62%) was obtained as colorless laque. $R_f = 0.40$ (60/40 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -90.1$ ($c = 0.8$, CHCl_3); LRMS (ESI+) m/z (%) 719 (100) $[M+H]^+$; HRMS (ESI+) m/z found 719.4190. $\text{C}_{40}\text{H}_{59}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}$ requires 719.4198. Five drops of TBAF (1 M in THF) were added to a solution of the silylated intermediate (30 mg, 0.042 mmol) in THF (1.5 mL). The mixture was stirred for 30 min at room temperature. After evaporation, the residue was directly purified by flash chromatography $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (99/1) to give (–)-185 (23 mg, 91%) as a colourless oil; $R_f = 0.24$ (96/4 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); $[\alpha]_D^{20} = -117.0$ ($c = 0.9$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3297, 2921, 2847, 1674, 1654, 1523, 698 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.21 (s, 3H, 3×H10), 1.25–1.41 (m, 4H, 2×H19, 2×H120), 1.41 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, 3×H25), 1.61–1.98 (m, 7H, 2×H21, 2×H18, 2×H4, 1×H3a), 2.17–2.26 (m, 1H, 1×H3b), 2.33–2.62 (m, 3H, 2×H22, 1×H5a), 3.13

(dd, $J = 13.8, 7.0$ Hz, 1H, 1×H13a), 3.29–3.40 (m, 1H, 1×H13b), 3.43 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H, 1×H26a), 3.69 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H, 1×H26b), 3.86–3.94 (m, 1H, 1×H5b), 4.29 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H, 1×H24), 4.76 (dd, $J = 7.9, 2.4$ Hz, 1H, 1×H12), 5.27–5.36 (m, 1H, 1×H2), 6.01 (s, 1H, NH), 7.04–7.10 (m, 2H, 1×H7, NH), 7.20–7.36 (m, 10H, Har), 7.91 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 20.1 (CH_3 , C25), 23.3 (CH_2 , C21), 23.5 (CH_3 , C10), 24.9 (CH_2 , C3), 25.2 (CH_2 , C4), 25.5 (CH_2 , C19), 29.0 (CH_2 , C20), 29.8 (CH_2 , C18), 36.0 (CH_2 , C13), 37.5 (CH_2 , C22), 40.7 (CH_2 , C26), 47.2 (CH_2 , C5), 53.6 (CH, C7), 54.7 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 62.9 (C, C9), 72.8 (CH, C24), 126.9 (CH, C17), 127.1 (CH, C30), 128.4 (2×CH, 2×C15), 128.9 (2×CH, 2×H16), 129.3 (2×CH, 2×C28), 130.4 (2×CH, 2×C29), 135.6 (C, C27), 137.2 (C, C14), 172.0 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.9 (C, C11), 175.4 (C, C8), 212.6 (C, C23); LRMS (ESI+) m/z (%) 627 (6) $[M+\text{Na}]^+$, 605 (100) $[M+\text{H}]^+$, 517 (8); HRMS (ESI+) m/z found 605.3326. $\text{C}_{34}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_6$ requires 605.3334.

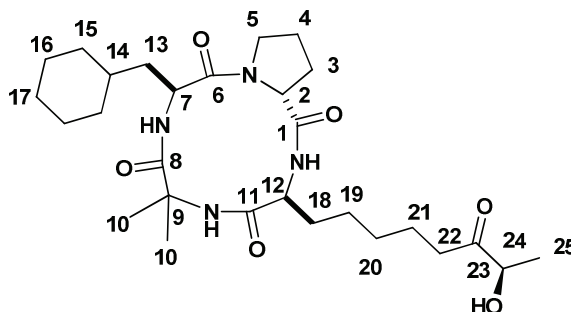
(–)-(3*S*,6*R*,9*S*,14*aR*)-6,9-dibenzyl-3-[(*R*)-7-hydroxy-6-oxooctyl]-6-methyldecahydropyrrolo[1,2- α][1,4,7,10]teraazacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(–)-186]



According **Method R** and starting from cyclotetrapeptide (–)-156 (70 mg, 0.14 mmol), xanthate intermediate **166g** (80 mg, 70%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (80/20) as colourless laque. $R_f = 0.36$ (60/40 cyclohexane/EtOAc); LRMS (ESI+) m/z (%) 856 (100) $[M+\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$, 839 (46) $[M+\text{H}]^+$, 391 (35); HRMS (ESI+) m/z found 839.3897. $\text{C}_{43}\text{H}_{63}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}_2\text{Si}$ requires 839.3902. Starting from this xanthate intermediate (75 mg, 0.09 mmol), the next silylated intermediate (49 mg, 76%) was obtained after flash chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30) as a colourless laque. $R_f = 0.42$ (60/40 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -13.6$ ($c = 1.9$, CHCl_3); LRMS (ESI+) m/z (%) 736 (100) $[M+\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$, 719 (69) $[M+\text{H}]^+$, 391 (86); HRMS (ESI+) m/z found 719.4190. $\text{C}_{40}\text{H}_{59}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}$ requires 719.4198. Starting from this silylated intermediate (30 mg, 0.04 mmol), the product (–)-186 (21 mg, 85%) was obtained after flash chromatography $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (99/1) as a colorless oil. $R_f = 0.24$ (96/4 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); $[\alpha]_D^{20} = -32.1$ ($c = 0.7$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3305, 2925, 2851, 1674, 1527, 1450, 1258, 698 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.25–1.36 (m, 4H, 3×H10, 1×H3a), 1.42 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, 3×H25), 1.60–1.71 (m, 4H, 2×H19, 2×H20), 1.71–1.86 (m, 5H, 2×H21, 2×H4, 1×H3b), 2.08–2.17 (m, 1H, 1×H18a), 2.28–2.36 (m, 1H, 1×H18b), 2.38–2.57 (m, 2H, 2×H5), 3.00 (m, 2H, 2×H22), 3.17–3.24 (m, 2H, 2×H26), 3.29 (dd, $J = 13.4, 10.1$ Hz, 1H, 1×H13a), 3.78–3.86 (m, 1H, 1×H13b), 4.15–4.25 (m, 1H, 1×H12), 4.28 (q, $J = 7.0$ Hz, 1H, 1×H24), 4.69 (dd, $J = 7.6, 1.8$ Hz, 1H, 1×H2), 5.19 (ddd, $J = 10.1, 10.1, 5.8$ Hz, 1H, 1×H7), 6.18 (s, 1H, NH), 7.09 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH), 7.23–7.40 (m, 10H, Har), 7.45 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 20.1 (CH_3 , C25), 22.9 (CH_2 , C21), 23.5 (CH_3 , C10), 24.9 (CH_2 , C3), 25.0 (CH_2 , C4), 25.4 (CH_2 , C19), 28.8 (CH_2 , C20), 29.0 (CH_2 , C18), 36.2 (CH_2 , C13), 37.5 (CH_2 , C22), 43.9 (CH_2 , C26), 47.0 (CH_2 , C5), 53.9 (CH, C7), 54.4 (CH, C12), 58.1 (CH, C2), 61.9 (C, C9), 72.8 (CH, C24), 127.0 (CH, C17), 127.4 (CH, C30), 128.6 (2×CH, 2×C15), 128.8 (2×CH, 2×C16), 129.3 (2×CH, 2×C28), 131.3 (2×CH, 2×C29), 135.6 (C, C27), 137.2 (C, C14), 172.0 (C, C1),

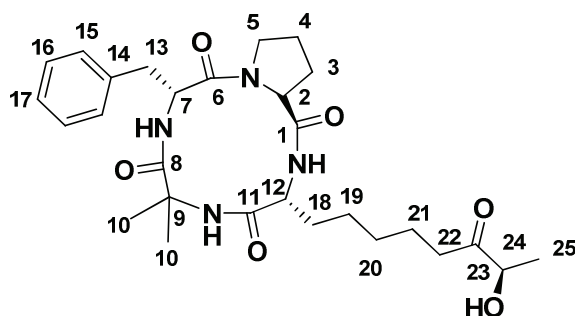
173.0 (C, C6), 174.6 (C, C11), 175.8 (C, C8), 212.6 (C, C23); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 605 (100) $[M+H]^+$; **HRMS (ESI+)** m/z found 605.3330. $C_{34}H_{45}N_4O_6$ requires 605.3334.

(-)-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-cyclohexan-3-[(*R*)-7-hydroxy-6-oxooctyl]-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetraazacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(-)-184]



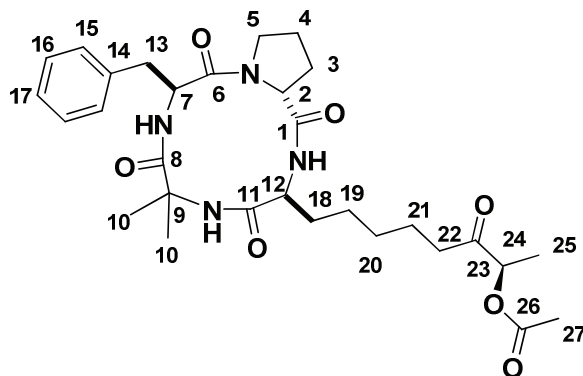
According to **Method R** and starting from (-)-155 (36 mg, 0.081 mmol), and xanthate **166g** (65 mg, 0.203), xanthate intermediate (30 mg, 0.040 mmol, 49%) was obtained after a flash chromatography cyclohexane/EtOAc (70/30). Starting from this intermediate (20 mg, 0.026 mmol), the next silylated intermediate (11 mg, 0.016 mmol, 62%) was obtained after flash chromatography CH_2Cl_2 /MeOH (92/8). R_f = 0.30 (70/30 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ = -64.7 (c = 0.8, $CHCl_3$); **LRMS (ESI+)** 649 (100) $[M+H]^+$, 225 (70); **HRMS (ESI+)** m/z found 671.4166. requires $C_{34}H_{60}N_4NaO_6Si$ 671.4174. Starting from this silylated intermediate (11 mg, 0.016 mmol), the product (-)-184 (10 mg, 100%) was obtained after flash chromatography CH_2Cl_2 /MeOH (98/2). R_f = 0.30 (70/30 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ = -78.0 (c = 1, $CHCl_3$); **IR** ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3465, 3281, 2983, 2925, 2860, 1724, 1643, 1458, 1368, 1225, 1152, 1368, 907, 841, 747, 703 cm^{-1} ; **1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ 0.84–1.02 (m, 2H, 2 \times H19), 1.10–1.24 (m, 2H, 2 \times H17), 1.26 (m, 2H, 2 \times H20), 1.26–1.32 (m, 3H, 2 \times H21, 1 \times H4a), 1.34 (s, 3H, 3 \times H10a), 1.38 (d, J = 7.1 Hz, 3H, 3 \times H25), 1.57–1.63 (m, 7H, 4 \times H16, 2 \times H18, 1 \times H14), 1.64–1.73 (m, 4H, 4 \times H15), 1.77 (s, 3H, 3 \times H10b), 1.78–1.97 (m, 3H, 2 \times H3, 1 \times H4b), 2.33–2.14 (m, 1H, 1 \times H5a), 2.40–2.55 (m, 2H, 2 \times H22), 3.51 (ddd, J = 10.2, 7.4, 7.4 Hz, 2H, 2 \times H13), 3.98 (ddd, J = 10.2, 8.5, 4.8 Hz, 1H, 1 \times H12), 4.14–4.27 (m, 2H, 1 \times H5b, 1 \times H24), 4.73 (dd, J = 7.9, 2.0 Hz, 1H, 1 \times H2), 4.97 (ddd, J = 10.0, 8.3, 7.2 Hz, 1H, 1 \times H7), 5.93 (s, 1H, NH), 7.12 (d, J = 10.2 Hz, 1H, NH), 7.29 (s, 1H, NH); **^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 20.1 (CH_3 , C25), 23.5 (CH_2 , C4), 23.8 (CH_3 , C21), 25.0 (CH_2 , C19), 25.4 (CH_2 , C16a), 25.5 (CH_2 , C16b), 26.3 (CH_3 , C10a), 26.6 (CH_2 , C17), 26.8 (CH_3 , C10b), 28.9 (CH_2 , C20), 29.0 (CH_2 , C3), 29.9 (CH , C14), 33.4 (CH_2 , C18), 36.6 (CH_2 , C22), 34.7 (CH_2 , C13), 37.2 (CH_2 , C15a), 37.5 (CH_2 , C15b), 47.3 (CH_2 , C5), 50.3 (CH , C7), 54.5 (CH , C12), 58.0 (C, C9), 59.0 (CH , C2), 72.8 (CH , C24), 172.2 (C, C1), 173.7 (C, C6), 174.4 (C, C11), 175.8 (C, C8) 212.6 (C, C23); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 535 (100) $[M+H]^+$, 225 (70); **HRMS (ESI+)** m/z found 557.3310. $C_{28}H_{46}N_4O_6Na$ requires 557.3305.

(+)-(3*R*,9*R*,14*aS*)-9-Benzyl-3-[(*R*)-7-hydroxy-6-oxooctyl]-6,6-dimethyldecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetraazacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(+)-176]



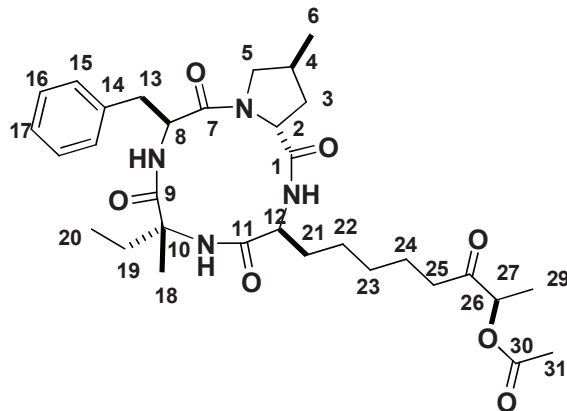
According to **Method R** and starting from (+)-**144** (64 mg, 0.14 mmol) and xanthate **166g** (113 mg, 0.35 mmol), the xanthate intermediate (60 mg, 0.08 mmol, 57%) was obtained after flash chromatography. Starting from this intermediate (48 mg, 0.063 mmol), the next silylated intermediate (12 mg, 0.018 mmol, 29%) was obtained after flash chromatography CH₂Cl₂/MeOH (92/8) as colourless laque. R_f = 0.30 (70/30 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ = +78.5 (c = 0.8, CHCl₃); **HRMS (ESI+)** m/z found 665.3705. C₃₄H₅₄N₄O₆NaS, requires 665.3710. Starting from this silylated intermediate (12 mg, 0.0184 mmol), the product (+)-**176** (10 mg, 100%) was obtained after flash chromatography CH₂Cl₂/MeOH (98/2). R_f = 0.16 (98/2 CH₂Cl₂/MeOH); $[\alpha]_D^{20}$ = +64.7 (c = 0.43, CHCl₃); **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ ppm 1.22–1.30 (m, 4H, 2×H19, 2×H20), 1.34 (s, 3H, 3×H10a), 1.38 (d, J = 7.1 Hz, 3H, 3×H25), 1.57–1.69 (m, 4H, 1×H3a, 2×H21, 1×H18a), 1.77 (m, 2H, 1×H18b, 1×H4a), 1.77 (m, 3H, 3×H10b), 2.18 (m, 1H, 1×H4b), 2.33 (m, 1H, 1×H3b), 2.38–2.58 (m, 2H, 2×H22), 2.95 (dd, J = 13.5, 5.7 Hz, 1H, 1×H13a), 3.11–3.39 (m, 2H, 1×H13b, 1×H5a), 3.8 (m, 1H, 1×H5b), 4.21 (m, 2H, 1×H12, 1×H24), 4.66 (d, J = 7.3 Hz, 1H, 1×H2), 5.16 (ddd, J = 10.1, 10.1, 5.8 Hz, 1H, 1×H7), 6.0 (s, 1H, NH), 7.13 (d, J = 10.2 Hz, 1H, NH), 7.17–7.31 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.50 (d, J = 10.2 Hz, 1H, NH); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ ppm 20.1 (CH₃, C25), 23.5 (CH₂, C21), 23.8 (CH₃, C10b), 25.0 (CH₂, C3), 25.2 (CH₂, C4), 25.4 (CH₂, C19), 26.7 (CH₃, C10a), 28.9 (CH₂, C18), 29.0 (CH₂, C20), 36.0 (CH₂, C13), 37.5 (CH₂, C22), 47.2 (CH₂, C5), 53.7 (CH, C7), 54.5 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 72.8 (CH, C24), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.2 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, C14), 172.1 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.5 (C, C11), 175.8 (C, C8), 212.6 (C, C23); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 551 (100) [M +Na]⁺, 529 (10); **HRMS (ESI+)** m/z found 551.2847. C₂₈H₄₀N₄O₆Na requires 551.2846.

(–)-(R)-8-(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Benzyl-6,6-dimethyl-1,4,7,10-tetraoxotetradecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetra-azacyclododecin-3-yl)-3-oxooctan-2-yl acetate [(–)-179]



To a stirred solution of (–)-**178** (10.0 mg, 0.018 mmol) in CH_2Cl_2 (1 mL) was added DMAP (catalytic amount) and 3 drops of Ac_2O at 0°C . The mixture was stirred overnight at rt. After solvent evaporation, the residue was directly purified by flash chromatography cyclohexane/EtOAc (60/40) to give (–)-**179** (9 mg, 88%) as colorless laque. $R_f = 0.09$ (60/40 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -73.1$ ($c = 0.9$, CHCl_3); IR ν_{max} (thin film, CH_2Cl_2) 3518, 3293, 2929, 1723, 1679, 1625, 1528, 1425, 1368, 1233, 1082 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.25–1.34 (m, 4H, 2×H19, 2×H20), 1.34 (s, 3H, 3×H10a), 1.39 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, 3×H25), 1.54–1.67 (m, 4H, 1×H3a, 2×H21, 1×H18a), 1.77 (m, 2H, 1×H18b, 1×H4a), 1.77 (s, 3H, 3×H10b), 2.14 (s, 3H, 3×H27), 2.18 (m, 1H, 1×H4b), 2.32 (m, 1H, 1×H3b), 2.42 (m, 1H, 1×H22a), 2.51 (m, 1H, 1×H22b), 2.95 (dd, $J = 13.5$, 5.7 Hz, 1H, 1×H13a), 3.23 (m, 1H, 1×H5a), 3.26 (dd, $J = 13.5$, 10.1 Hz, 1H, 1×H13b), 3.86 (m, 1H, 1×H5b), 4.19 (m, 1H, 1×H12), 4.66 (bd, $J = 7.7$ Hz, 1H, 1×H2), 5.08 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H, 1×H24), 5.16 (ddd, $J = 10.1$, 10.1, 5.8 Hz, 1H, 1×H7), 6.02 (s, 1H, NH), 7.12 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH), 7.20–7.30 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.53 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 16.3 (CH_3 , C27), 20.1 (CH_3 , C25), 23.1 (CH_2 , C21), 23.8 (CH_3 , C10b), 25.0 (CH_2 , C3), 25.2 (CH_2 , C4), 25.5 (CH_2 , C19), 26.7 (CH_3 , C10a), 28.9 (CH_2 , C18), 29.0 (CH_2 , C20), 36.0 (CH_2 , C13), 38.2 (CH_2 , C22), 47.2 (CH_2 , C5), 53.6 (CH, C7), 54.5 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 74.8 (CH, C24), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.2 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, C14), 170.6 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.6 (C, C11), 175.9 (C, C8), 207.8 (C, C26), 212.6 (C, C23); HRMS (ESI+) m/z found 593.2946. $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_7\text{Na}$ requires 593.2946.

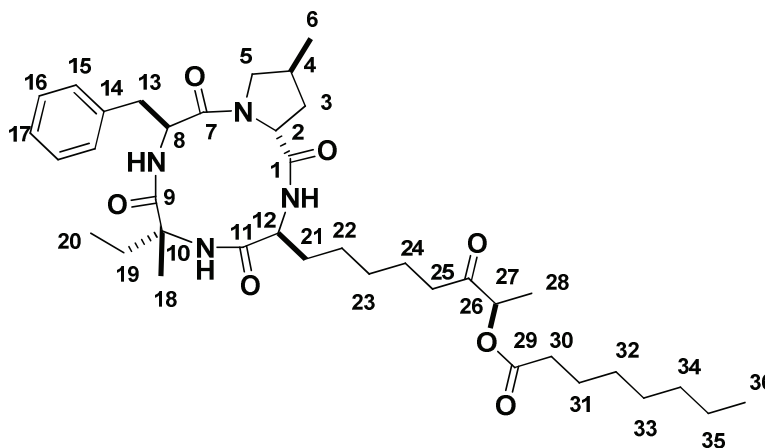
(–)-(R)-8-((3S,6R,9S,13S,14aR)-9-Benzyl-6-ethyl-6,13-dimethyl-1,4,7,10-tetraoxotetradecahydropyrrolo[1,2-a][1,4,7,10]tetraazacyclododecin-3-yl)-3-oxooctan-2-yl acetate [(–)-**180**]



FR235222 (20 mg, 0.036 mmol) in CH_2Cl_2 (2 mL) was added acetic anhydride (5 mg, 0.049 mmol), Et_3N (8 mg, 0.072 mmol) and DMAP (9 mg, 0.072 mmol) at 0°C . The solution was stirred for 1 h at 0°C and 16 h at rt. EtOAc was added and the mixture was washed with a saturated solution of NH_4Cl . The organic layer was dried over MgSO_4 and *in vacuo*. After flash chromatography $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (98/2), the product (–)-**180** (20 mg, 93%) was isolated as a colorless laque. $R_f = 0.18$ (98/2 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); $[\alpha]_D^{20} = -87.5$ ($c = 2.4$, CHCl_3); IR ν_{max} (thin film, CH_2Cl_2) 3538, 3293, 2929, 2864, 1728, 1680, 1621, 1520, 1433, 1237, 1053 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0.84 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 3×H20), 0.88 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 3×H6), 1.25–1.35 (m, 7H, 3×H18, 2×H22, 2×H23), 1.36 (m, 1H, 1×H3a), 1.39 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, 3×H29), 1.53–1.66 (m, 3H, 2×H24, 1×H21a), 1.81 (m, 1H, 1×H21b), 2.13 (s, 3H, 3×H31), 2.16 (m, 1H, 1×H19a), 2.28–2.56 (m, 4H, 1×H3b, 1×H19b, 1×H25a, 1×H25b), 2.63 (m, 1H, 1×H4), 2.73 (dd, $J = 9.6$, 8.1 Hz, 1H, 1×H5a), 2.96 (dd, $J = 13.5$, 6.0 Hz, 1H, 1×H13a), 3.24 (dd, $J = 13.5$, 9.9 Hz, 1H, 1×H13b), 4.06 (dd, $J = 9.6$, 7.6 Hz, 1H, 1×H5b), 4.21 (ddd, J

= 10.2, 7.6, 7.6 Hz, 1H, 1×H12), 4.67 (d, J = 6.5 Hz, 1H, 1×H2), 5.08 (q, J = 7.1 Hz, 1H, 1×H27), 5.16 (ddd, J = 10.1, 9.9, 6.0 Hz, 1H, 1×H8), 5.87 (s, 1H, NH), 7.16 (d, J = 10.2 Hz, 1H, NH), 7.19–7.29 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.57 (d, J = 10.1 Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.6 (CH_3 , C20), 16.3 (CH_3 , C29), 18.3 (CH_3 , C6), 21.0 (CH_3 , C31), 22.5 (CH_3 , C18), 23.1 (CH_2 , C24), 25.5 (CH_2 , C22), 28.3 (CH_2 , C19), 28.8 (CH_2 , C23), 28.9 (CH_2 , C21), 33.0 (CH , C4), 33.2 (CH_2 , C3), 35.9 (CH_2 , C13), 38.2 (CH_2 , C25), 53.5 (CH , C8), 54.0 (CH_2 , C5), 54.6 (CH , C12), 58.2 (CH , C2), 63.2 (C, C10), 74.8 (CH , C27), 126.9 (CH , C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.2 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, C14), 170.6 (C, C30), 172.0 (C, C1), 173.2 (C, C7), 174.4 (C, C11), 175.8 (C, C9), 207.7 (C, C26); LRMS (ESI+) m/z (%) 621 (100) [$M+\text{Na}$] $^+$, 599 (15); HRMS (ESI+) m/z found 621.3257. $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_7\text{Na}$ requires 621.3264.

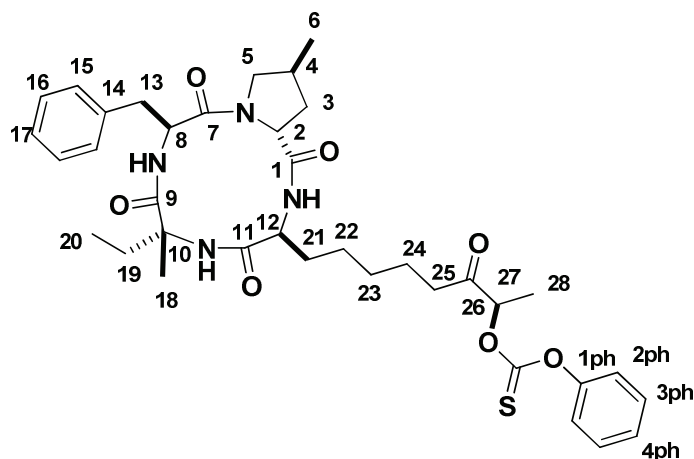
(–)-(R)-8-((3S,6R,9S,13S,14aR)-9-Benzyl-6-ethyl-6,13-dimethyl-1,4,7,10-tetraoxotetradecahydropyrrolo[1,2-a][1,4,7,10]tetra-azacyclododecin-3-yl)-3-oxooctan-2-yl octanoate [(–)-181]



To a solution of FR235222 (43 mg, 0.077 mmol) in dry CH_2Cl_2 (2 mL) was added octanoyl chloride (22 mg, 0.13 mmol) and DMAP (36 mg, 0.29 mmol). The mixture was stirred for 18 h and was quenched by a saturated solution of NaHCO_3 . The product was extracted with EtOAc. The organic layer was dried (MgSO_4) and was removed *in vacuo*. After flash chromatography cyclohexane/EtOAc (75/25), the product (–)-181 (48 mg, 91%) was isolated as a colorless laque. R_f = 0.3 (70/30 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ = –88.6 (c = 1.0, CHCl_3); IR ν_{max} (thin film, CH_2Cl_2) 3444, 2933, 2855, 1720, 1646, 1630, 1523, 1421, 1384, 1164 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0.83 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 3×H20), 0.88 (d, J = 6.6 Hz, 3H, 3×H6), 0.89 (t, J = 6.8 Hz, 3H, 3×H36), 1.24–1.35 (m, 15H, 3×H18, 2×H22, 2×H23, 2×H32, 2×H33, 2×H34, 2×H35), 1.36 (m, 1H, 1×H3a), 1.38 (d, J = 7.1 Hz, 3H, 3×H28), 1.51–1.71 (m, 5H, 2×H31, 2×H24, 1×H21a), 1.81 (m, 1H, 1×H21b), 2.16 (m, 1H, 1×H19a), 2.27–2.45 (m, 5H, 1×H3b, 1×H19b, 1×H25a, 2×H30), 2.51 (dt, J = 17.4, 7.2 Hz, 1H, 1×H25b), 2.62 (m, 1H, 1×H4), 2.73 (dd, J = 9.7, 8.1 Hz, 1H, 1×H5a), 2.96 (dd, J = 13.5, 6.5 Hz, 1H, 1×H13a), 3.24 (dd, J = 13.5, 9.8 Hz, 1H, 1×H13b), 4.06 (dd, J = 9.6, 7.6 Hz, 1H, 1×H5b), 4.20 (ddd, J = 10.2, 7.6, 7.6 Hz, 1H, 1×H12), 4.67 (d, J = 6.5 Hz, 1H, 1×H2), 5.08 (q, J = 7.1 Hz, 1H, 1×H27), 5.16 (ddd, J = 10.2, 9.9, 6.0 Hz, 1H, 1×H8), 5.86 (s, 1H, NH), 7.15 (d, J = 10.2 Hz, 1H, NH), 7.18–7.31 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.56 (d, J = 10.2 Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.6 (CH_3 , C20), 14.2 (CH_3 , C36), 16.3 (CH_3 , C28), 18.3 (CH_3 , C6), 22.5 (CH_3 , C18), 22.8 (CH_2 , C35), 23.1 (CH_2 , C24), 25.0 (CH_2 , C31), 25.5 (CH_2 , C22), 28.0 (CH_2 , C19), 28.9 (CH_2 , C23), 29.0 (CH_2 , C21), 29.1 (CH_2 , C33), 29.2 (CH_2 , C32), 31.8 (CH_2 , C34), 33.0 (CH , C4), 33.2 (CH_2 , C3), 34.2 (CH_2 , C30), 35.9 (CH_2 , C13), 38.2 (CH_2 , C25), 53.5 (CH , C8), 54.0 (CH_2 , C5), 54.6 (CH , C12), 58.1

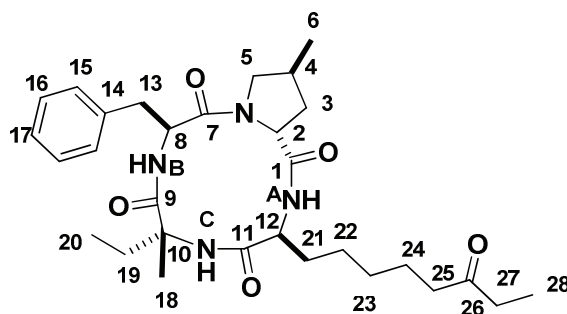
(CH, C2), 63.2 (C, C10), 74.6 (CH, C27), 126.8 (CH, C17), 128.7 (2×CH, 2×C15), 129.2 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, C14), 172.0 (C, C1), 173.2 (C, C7), 173.4 (C, C29), 174.3 (C, C11), 175.8 (C, C9), 207.9 (C, C26); **HRMS (ESI+)** m/z found 705.4200. $C_{38}H_{58}N_4O_7Na$ requires 705.4203.

(–)-O-(R)-8-[(3*S*,6*R*,9*S*,13*S*,14*aR*)-9-Benzyl-6-ethyl-6,13-dimethyl-1,4,7,10-tetraoxotetradecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetraazacyclododecin-3-yl]-3-oxooctan-2-yl O-phenyl carbonothioate [(–)-182]



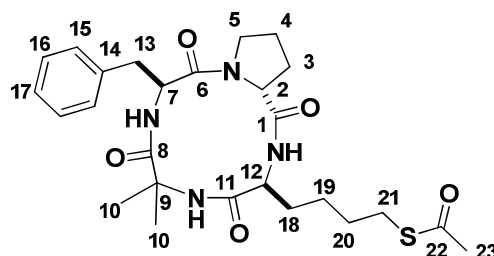
Phenyl chlorothiono carbonate (34 mg, 0.2 mmol) was added to a solution of FR235222 (83 mg, 0.15 mmol) in CH_2Cl_2 (2 mL) at 0°C, followed by DMAP (38 mg, 0.32 mmol). The mixture was stirred for 1 h at 0°C and at rt for 16 h. After solvent evaporation, the residue was directly purified by flash chromatography cyclohexane/EtOAc (75/25) to give **(–)-182** (76 mg, 74%) as colorless laque; R_f = 0.15 (30/70 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ = –71.9 (c = 1.1, $CHCl_3$); **IR** ν_{max} (thin film, CH_2Cl_2) 3303, 2924, 1735, 1683, 1662, 1627, 1525, 1274, 1222, 1207 cm^{-1} ; **¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 0.83 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 3×H20), 0.88 (d, J = 6.6 Hz, 3H, 3×H6), 1.25–1.50 (m, 8H, 3×H18, 2×H22, 2×H23, 1×H3a), 1.57 (d, J = 7.2 Hz, 3H, 3×H28), 1.59–1.71 (m, 3H, 1×H21a, 2×H24), 1.80 (m, 1H, 1×H21b), 2.15 (m, 1H, 1×H19a), 2.31 (m, 1H, 1×H19b), 2.37 (m, 1H, 1×H3b), 2.45–2.77 (m, 3H, 1×H4, 2×H25), 2.73 (dd, J = 9.6, 8.0 Hz, 1H, 1×H5a), 2.96 (dd, J = 13.5, 6.0 Hz, 1H, 1×H13a), 3.24 (dd, J = 13.5, 9.9 Hz, 1H, 1×H13b), 4.06 (dd, J = 9.6, 7.6 Hz, 1H, 1×H5a), 4.19 (ddd, J = 10.0, 7.6, 7.6 Hz, 1H, 1×H12), 4.66 (dd, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H, 1×H2), 5.16 (ddd, J = 10.1, 9.9, 6.0 Hz, 1H, 1×H8), 5.56 (q, J = 7.2 Hz, 1H, 1×H27), 5.78 (s, 1H, NH), 7.13–7.34 (m, 9H, 2×H2_{phe}, 1×H4_{phe}, 2×H15, 2×H16, 1×H17, NH), 7.43 (dd, J = 7.8, 7.8 Hz, 2H, 2×H3_{phe}), 7.54 (d, J = 10.1 Hz, 1H, NH); **¹³C NMR (100 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 8.6 (CH₃, C20), 16.6 (CH₃, C28), 18.3 (CH₃, C6), 22.6 (CH₃, C18), 23.0 (CH₂, C24), 25.6 (CH₂, C22), 28.0 (CH₂, C19), 28.9 (CH₂, C21), 29.0 (CH₂, C23), 33.1 (CH, C4), 33.2 (CH₂, C3), 35.9 (CH₂, C13), 38.4 (CH₂, C25), 53.6 (CH, C8), 54.1 (CH₂, C5), 54.6 (CH, C12), 58.2 (CH, C2), 63.2 (C, C10), 83.4 (CH, C27), 122.0 (2×CH, 2×C2_{phe}), 126.9 (CH, C4_{phe}), 127.0 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C16), 129.3 (2×CH, 2×C15), 129.8 (2×CH, 2×C3_{phe}), 137.3 (C, C14), 153.6 (C, C1_{phe}), 172.1 (C, C1), 173.3 (C, C7), 174.4 (C, C11), 175.9 (C, C9), 194.8 (C, C=S), 206.7 (C, C26); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 715 (100) [$M+Na$]⁺, 693 (25) [$M+H$]⁺; **HRMS (ESI+)** m/z found 715.3154. $C_{37}H_{48}N_4O_7NaS$ requires 715.3141.

(-)-(3*S*,6*R*,9*S*,13*S*,14*aR*)-9-Benzyl-6-ethyl-6,13-dimethyl-3-(6-oxooctyl)decahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetraazacyclododecine-1,4,7,10-tetraone [(-)-183]



To the product **(-)-182** (4.4 mg, 6.4 μmol) in degassed solution of toluene (1 mL) was added $n\text{Bu}_3\text{SnH}$ (5.5 mg, 19 μmol) and AIBN (catalytic). The mixture was warmed at 100°C under argon for 3 h. The solvent was removed *in vacuo* and the residue was directly purified by flash chromatography (10% KF w/w in silica gel, 70/30 cyclohexane/EtOAc) to give the product **(-)-183** (2.3 mg, 67%) as colourless laque; $R_f = 0.12$ (70/30 cyclohexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -117.6$ ($c = 1.3$, CHCl_3); IR ν_{max} (thin film, CH_2Cl_2) 3307, 2925, 1714, 1682, 1662, 1628, 1524, 1456, 1378, 1248, 914 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0.84 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 3 \times H20), 0.88 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 3 \times H6), 1.05 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, 3 \times H28), 1.23-1.42 (m, 8H, 3 \times H18, 2 \times H22, 2 \times H23, 1 \times H3a), 1.52-1.65 (m, 3H, 1 \times H21a, 2 \times H24), 1.80 (m, 1H, 1 \times H21b), 2.15 (m, 1H, 1 \times H19a), 2.27-2.46 (m, 6H, 1 \times H3b, 1 \times H19b, 1 \times H25a, 1 \times H25b, 2 \times H27), 2.62 (m, 1H, 1 \times H4), 2.73 (dd, $J = 9.7, 8.0$ Hz, 1H, 1 \times H5a), 2.96 (dd, $J = 13.5, 6.0$ Hz, 1H, 1 \times H13a), 3.24 (dd, $J = 13.5, 9.9$ Hz, 1H, 1 \times H13b), 4.06 (dd, $J = 9.7, 7.6$ Hz, 1H, 1 \times H5b), 4.19 (ddd, $J = 10.2, 7.6, 7.6$ Hz, 1H, 1 \times H12), 4.67 (dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, 1H, 1 \times H2), 5.16 (ddd, $J = 10.1, 9.9, 6.0$ Hz, 1H, 1 \times H7), 5.77 (s, 1H, NH), 7.14 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH), 7.18-7.32 (m, 5H, 2 \times H15, 2 \times H16, 1 \times H17), 7.54 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.1 (CH_3 , C28), 8.6 (CH_3 , C20), 18.3 (CH_3 , C6), 22.6 (CH_3 , C18), 23.8 (CH_2 , C24), 25.6 (CH_2 , C22), 28.1 (CH_2 , C19), 29.0 (CH_2 , C21), 29.1 (CH_2 , C23), 33.1 (CH , C4), 33.3 (CH_2 , C3), 35.9 (CH_2 , C13), 36.1 (CH_2 , C27), 42.4 (CH_2 , C25), 53.6 (CH , C8), 54.1 (CH_2 , C5), 54.6 (CH , C12), 58.2 (CH , C2), 63.3 (C, C10), 126.9 (CH , C17), 128.8 (2 \times CH, 2 \times C15), 129.3 (2 \times CH, 2 \times C16), 137.3 (C, C14), 172.1 (C, C1), 173.2 (C, C7), 174.4 (C, C11), 175.9 (C, C9), 211.9 (C, C26); LRMS (ESI+) m/z (%) 563 (100) [$M+\text{Na}$] $^+$; HRMS (ESI+) m/z found 563.3209. $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_5\text{Na}$ requires 563.3209.

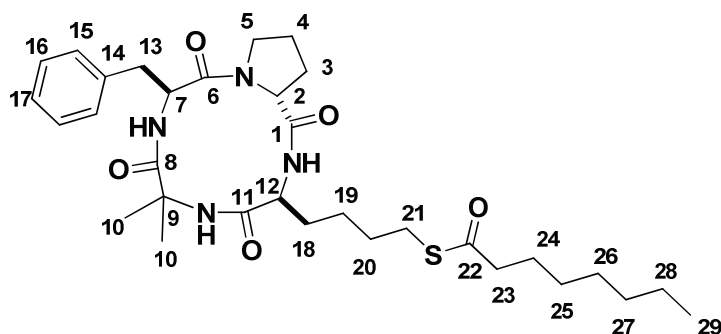
(-)-(S)-4-[(3*S*,9*S*,14*aR*)-9-Benzyl-6,6-dimethyl-1,4,7,10-tetra-oxotetradecahydropyrrolo[1,2-*a*][1,4,7,10]tetra-azacyclododecin-3-yl]butyl ethanethioate [(-)-187]



To a solution of **(-)-144** (32 mg, 0.073 mmol) in dry THF (10 mL) was added thioacetic acid (22 mg, 0.29 mmol). The mixture was refluxed for 30 min under argon. A catalytic amount of AIBN was added and the mixture was stirred at reflux for 16 h. After evaporation, the residue was directly purified by flash chromatography $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (99/1) to give **(-)-187** (34 mg, 91%) as colorless

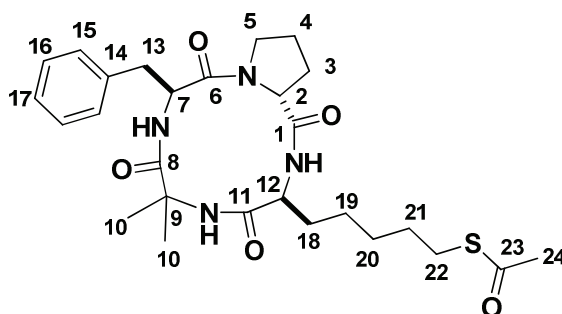
laque. $R_f = 0.12$ (99/1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); $[\alpha]_D^{20} = -85.1$ ($c = 1.1$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3307, 2934, 1684, 1630, 1528, 1428, 1274, 1187, 915 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.34 (s, 3H, 3 \times H10a), 1.39 (m, 2H, 2 \times H19), 1.53–1.71 (m, 4H, 1 \times H3a, 1 \times H4a, 2 \times H18), 1.72 (m, 5H, 3 \times H10b, 2 \times H20), 2.11–2.22 (m, 2H, 1 \times H4b, 1 \times H3b), 2.32 (s, 3H, 3 \times H23), 2.85 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, 2 \times H21), 2.95 (dd, $J = 13.4, 5.6$ Hz, 1H, 1 \times H13a), 3.23 (m, 1H, 1 \times H5a), 3.26 (m, 1H, 1 \times H13b), 3.86 (m, 1H, 1 \times H5b), 4.21 (m, 1H, 1 \times H12), 4.68 (m, 1H, 1 \times H2), 5.17 (s, 1H, 1 \times H7), 6.02 (s, 1H, NH), 7.13 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH), 7.19–7.29 (m, 5H, 2 \times H15, 2 \times H16, 1 \times H17), 7.53 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 23.7 (CH_3 , C10a), 24.8 (CH_2 , C3), 24.9 (CH_2 , C19), 25.1 (CH_2 , C4), 26.6 (CH_3 , C10b), 28.6 (CH_2 , C20), 28.9 (CH_2 , C21), 29.33 (CH_2 , C18), 30.8 (CH_3 , C23), 35.9 (CH_2 , C13), 47.1 (CH_2 , C5), 53.6 (CH, C7), 54.4 (CH, C12), 57.9 (CH, C2), 58.9 (C, C9), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2 \times CH, 2 \times C15), 129.2 (2 \times CH, 2 \times C16), 137.2 (C, C14), 172.0 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.4 (C, C11), 175.8 (C, C8), 196.0 (C, C22); LRMS (ESI+) m/z (%) 539 (100) $[M+\text{Na}]^+$, 517 (10); HRMS (ESI+) m/z found 539.2302. $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_5\text{NaS}$ requires 539.2304.

(–)-(S)-4-[(3S,9S,14aR)-9-Benzyl-6,6-dimethyl-1,4,7,10-tetraoxotetradecahydropyrrolo[1,2-a][1,4,7,10]tetra-azacyclododecin-3-yl]butyl octanethioate [(–)-188]



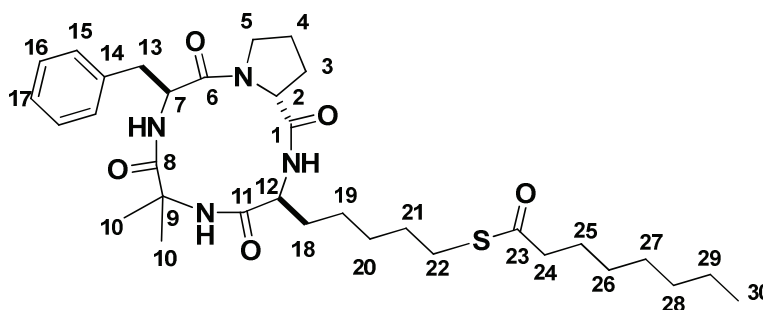
To a solution of (–)-144 (42 mg, 0.095 mmol) in dry THF (12 mL) was added octanethioic S-acid (61 mg, 0.38 mmol). The mixture was refluxed for 30 min under argon. A catalytic amount of AIBN was added and the mixture was stirred at reflux for 16 h. After evaporation, the residue was directly purified by flash chromatography $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (99/1) to give (–)-188 (39 mg, 68%) as colorless laque. $R_f = 0.19$ (92/8 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$); $[\alpha]_D^{20} = -56.5$ ($c = 1.2$, CHCl_3); IR ν_{max} (film, CH_2Cl_2) 3297, 2945, 2921, 2855, 1687, 1658, 1620, 1524, 1420, 1225, 1176 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0.88 (t, $J = 5.9$ Hz, 3H, 3 \times H30), 1.20–1.33 (m, 10H, 2 \times H29, 2 \times H28, 2 \times H27, 2 \times H26, 2 \times H19), 1.34 (s, 3H, 3 \times H10a), 1.58 (m, 2H, 2 \times H25), 1.59–1.69 (m, 5H, 2 \times H18, 1 \times H4a, 1 \times H3a, 1 \times H3b), 1.77 (s, 3H, 3 \times H10b), 1.94 (m, 2H, 2 \times H20), 2.16 (m, 1H, 1 \times H4b), 2.28–2.37 (m, 2H, 2 \times H22), 2.53 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, 2 \times H24), 2.84 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, 2 \times H21), 2.95 (dd, $J = 13.5, 5.7$ Hz, 1H, 1 \times H13a), 3.16–3.30 (m, 2H, 1 \times H13b, 1 \times H5a), 3.86 (ddd, $J = 10.1, 10.1, 4.6$ Hz, 1H, 1 \times H5b), 4.18 (ddd, $J = 10.1, 7.6, 7.6$ Hz, 1H, 1 \times H12), 4.66 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, 1 \times H2), 5.16 (ddd, $J = 10.1, 10.1, 5.8$ Hz, 1H, 1 \times H7), 5.99 (s, 1H, NH), 7.10 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH), 7.16–7.31 (m, 5H, 2 \times H15, 2 \times H16, 1 \times H17), 7.52 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 14.3 (CH_3 , C29), 22.8 (CH_2 , C28), 23.8 (CH_3 , C10b), 24.9 (CH_2 , C19), 25.0 (CH_2 , C3), 25.2 (CH_2 , C4), 25.9 (CH_2 , C24), 26.6 (CH_3 , C10a), 28.6 (CH_2 , C26), 28.7 (CH_2 , C25), 29.1 (2 \times CH $_2$, C20, C21), 29.5 (CH_2 , C18), 31.8 (CH_2 , C27), 36.0 (CH_2 , C13), 44.4 (CH_2 , C23), 47.2 (CH_2 , C5), 53.6 (CH, C7), 54.4 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2 \times CH, 2 \times C15), 129.2 (2 \times CH, 2 \times C16), 137.2 (C, C14), 172.1 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.4 (C, C11), 175.8 (C, C8), 199.9 (C, C22); HRMS (ESI+) m/z found 623.3244. $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_5\text{NaS}$ requires 623.3243.

(-)-(S)-4-[(3S,9S,14aR)-9-Benzyl-6,6-dimethyl-1,4,7,10-tetra-oxotetradecahydropyrrolo[1,2-a][1,4,7,10]tetra-azacyclododecin-3-yl]pentyl ethanethioate [(-)-189]



To a solution of (-)-**154** (10 mg, 0.022 mmol) in dry THF (10 mL) was added thioacetic acid (7 mg, 0.092 mmol). The mixture was refluxed for 30 min under argon. A catalytic amount of AIBN was added and the mixture was stirred at reflux for 16 h. After evaporation, the residue was directly purified by flash chromatography CH₂Cl₂/MeOH (99/1) to give (-)-**189** (7 mg, 59%) as colorless laque; R_f = 0.12 (99/1 CH₂Cl₂/MeOH); $[\alpha]_D^{20}$ = -54.3 (c = 0.7, CHCl₃); IR ν_{\max} (film, CH₂Cl₂) 3307, 2934, 1684, 1630, 1528, 1428, 1274, 1187, 915 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.24 (m, 2H, 2×H19), 1.34 (s, 3H, 3×H10a), 1.40 (m, 2H, 2×H20), 1.57 (m, 2H, 2×H4), 1.61 (s, 3H, 3×H10b), 1.77–1.87 (m, 5H, 1×H3a, 2×H18, 2×H21), 2.17 (m, 1H, 1×H3b), 2.32 (s, 3H, 3×H24), 2.85 (t, J = 7.2 Hz, 2H, 2×H22), 2.95 (dd, J = 13.5, 5.7 Hz, 1H, 1×H13a), 3.25 (m, 1H, 1×H5a), 3.75 (m, 1H, 1×H13b), 3.85 (m, 1H, 1×H5b), 4.18 (ddd, J = 10.1, 7.6, 7.6 Hz, 1H, 1×H12), 4.66 (ddd, J = 7.7, 2.3, 2.3 Hz, 1H, 1×H2), 5.16 (ddd, J = 10.1, 10.1, 5.8 Hz, 1H, 1×H7), 5.95 (s, 1H, NH), 7.09 (d, J = 10.3 Hz, 1H, NH), 7.18–7.34 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.50 (d, J = 10.2 Hz, 1H, NH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 23.8 (CH₃, C10a), 25.0 (CH₂, C3), 25.3 (2×CH₂, C19, C20), 26.7 (CH₃, C10b), 28.6 (CH₂, C4), 29.0 (CH₂, C21), 29.1 (CH₂, C22), 29.5 (CH₂, C18), 30.9 (CH₃, C24), 36.1 (CH₂, C13), 47.2 (CH₂, C5), 53.7 (CH, C7), 54.6 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.1 (C, C9), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.3 (2×CH, 2×C16), 137.3 (C, C14), 172.1 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.5 (C, C11), 175.9 (C, C8), 196.2 (C, C23); LRMS (ESI+) m/z (%) 531 (100) [M+H]⁺, 225 (5); HRMS (ESI+) m/z found 553.2455. C₂₇H₃₈N₄NaO₅S requires 553.2450.

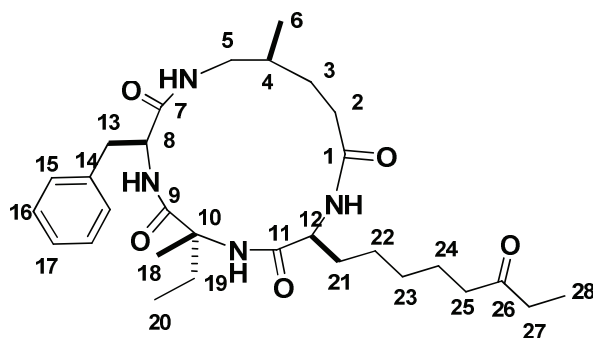
(-)-(S)-4-[(3S,9S,14aR)-9-Benzyl-6,6-dimethyl-1,4,7,10-tetraoxotetradecahydropyrrolo[1,2-a][1,4,7,10]tetra-azacyclododecin-3-yl]pentyl octanethioate [(-)-190]



To a solution of (-)-**154** (92 mg, 0.20 mmol) in dry THF (10 mL) was added octanethioic S-acid (130 mg, 0.89 mmol). The mixture was refluxed for 30 min under argon. A catalytic amount of AIBN was added and the mixture was stirred at reflux for 16 h. After evaporation, the residue was directly purified by flash chromatography CH₂Cl₂/MeOH (99/1) to give (-)-**190** (80 mg, 0.13 mmol, 65%) as colourless laque. R_f = 0.12 (99/1 CH₂Cl₂/MeOH); $[\alpha]_D^{20}$ = -60.7 (c = 0.7, CHCl₃); IR ν_{\max} (film,

CH₂Cl₂) 3296, 2945, 2920, 2855, 1689, 1658, 1620, 1524, 1420, 1225, 1176 cm⁻¹; **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 0.88 (t, J = 5.9 Hz, 3H, 3×H30), 1.25–1.33 (m, 10H, 2×H29, 2×H28, 2×H27, 2×H26, 2×H19), 1.34 (s, 3H, 3×H10a), 1.41 (m, 2H, 2×H25), 1.56 (m, 2H, 2×H4), 1.59–1.69 (m, 2H, 2×H18), 1.71–1.86 (m, 7H, 3×H10b, 2×H20, 2×H22), 2.18 (m, 1H, 1×H3a), 2.32 (m, 1H, 1×H3b), 2.50 (t, J = 7.5 Hz, 2H, 2×H24), 2.85 (t, J = 7.3 Hz, 2H, 2×H21), 2.95 (dd, J = 13.5, 5.7 Hz, 1H, 1×H13a), 3.16–3.30 (m, 2H, 1×H13b, 1×H5a), 3.86 (m, 1H, 1×H5b), 4.18 (ddd, J = 10.2, 7.6, 7.6 Hz, 1H, 1×H12), 4.66 (d, J = 5.7 Hz, 1H, 1×H2), 5.16 (ddd, J = 10.1, 10.1, 5.8 Hz, 1H, 1×H7), 5.93 (s, 1H, NH), 7.09 (d, J = 10.2 Hz, 1H, NH), 7.13–7.35 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.51 (d, J = 10.2 Hz, 1H, NH); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ ppm 14.3 (CH₃, C30), 22.8 (CH₂, C29), 23.8 (CH₃, C10a), 25.0 (CH₂, C3), 25.2 (CH₂, C19), 25.9 (CH₂, C25), 26.7 (CH₃, C10b), 28.6 (CH₂, C4), 28.8 (CH₂, C27), 29.0 (CH₂, C26), 29.1 (2×CH₂, C20, C21), 29.6 (CH₂, C18), 31.8 (CH₂, C28), 34.0 (CH₂, C122), 36.0 (CH₂, C13), 44.4 (CH₂, C24), 47.2 (CH₂, C5), 53.7 (CH, C7), 54.5 (CH, C12), 58.0 (CH, C2), 59.0 (C, C9), 126.9 (CH, C17), 128.8 (2×CH, 2×C15), 129.2 (2×CH, 2×C16), 137.2 (C, C14), 172.0 (C, C1), 173.0 (C, C6), 174.5 (C, C11), 175.8 (C, C8), 199.9 (C, C23); **LRMS (ESI⁺)** 615 (100) [M+H]⁺, 535 (75), 225 (80); **HRMS (ESI⁺)** m/z found 637.3387. C₃₃H₅₀N₄NaO₅S requires 637.3394.

(–)-(3*S*,6*R*,9*S*,14*S*)-3-Benzyl-6-ethyl-6,14-dimethyl-9-(6-oxooctyl)-1,4,7,10-tetraazacyclopentadecane-2,5,8,11-tetraone [(–)-192]

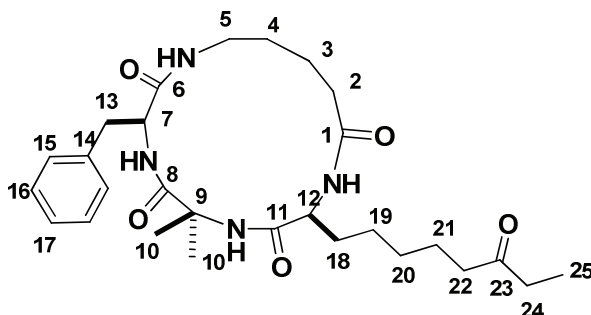


Method S : general prodecure to obtain 192

FR235222 (15 mg, 0.027 mmol) in a degassed solution of THF/methanol (1/1; 1 mL) under argon was cooled at 0°C. SmI₂ (0.1 M in THF) was injected until persistence of a deep blue coloration (about 3 mL). The mixture was stirred for 30 min at 0°C. A solution of THF/H₂O (1:1) was added and the product was extracted with EtOAc. The combined organic layer was dried over MgSO₄. After evaporation, the residue was purified by flash chromatography CH₂Cl₂/MeOH (97/3) to give (–)-192 (13 mg, 89%) as colorless laque. **R_f** = 0.3 (96/4 CH₂Cl₂/MeOH); [α]_D²⁰ = –56.0 (c = 1.3, CHCl₃); **IR** ν_{max} (thin film, CH₂Cl₂) 3309, 2933, 2864, 1707, 1638, 1520, 1454, 1260, 1180 cm⁻¹; **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ ppm 0.46 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 3×H20), 0.94 (d, J = 6.6 Hz, 3H, 3×H6), 1.06 (t, J = 7.3 Hz, 3H, 3×H28), 1.25–1.42 (m, 8H, 3×H18, 2×H22, 2×H23, 1×H3a), 1.42–1.79 (m, 6H, 1×H19a, 1×H19b, 2×H24, 1×H4a, 1×H3b), 1.80–2.03 (m, 2H, 1×H21a, 1×H21b), 2.08 (m, 1H, 1×H2a), 2.25 (m, 1H, 1×H2b), 2.40–2.47 (m, 4H, 2×H25, 2×H27), 2.68 (m, 1H, 1×H5a), 2.88 (dd, J = 14.2, 11.0 Hz, 1H, 1×H13a), 3.49 (m, 1H, 1×H5b), 3.54 (m, 1H, 1×H13b), 3.80 (m, 1H, 1×H12), 4.74 (m, 1H, 1×H8), 6.18 (s, 1H, NH), 6.44 (bd, J = 6.8 Hz, 1H, NH), 6.55 (bd, J = 9.5 Hz, 1H, NH), 7.19 (m, 1H, 1×H17), 7.26–7.27 (m, 4H, 2×H15, 2×H16), 7.63 (bd, J = 7.6 Hz, 1H, NH); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ ppm 7.9 (CH₃, C20), 8.1 (CH₃, C28), 18.3 (CH₃, C6), 21.6 (CH₃, C18), 23.7 (CH₂, C24), 26.3 (CH₂, C22), 28.8 (CH₂, C19), 29.2 (CH₂, C23), 29.7 (CH₂, C21), 31.6 (CH₂, C3), 33.2 (CH, C4), 34.1 (CH₂, C2), 36.2 (CH₂, C27), 37.7 (CH₂, C13), 42.2 (CH₂, C25), 44.3 (CH₂, C5), 54.7 (CH, C8),

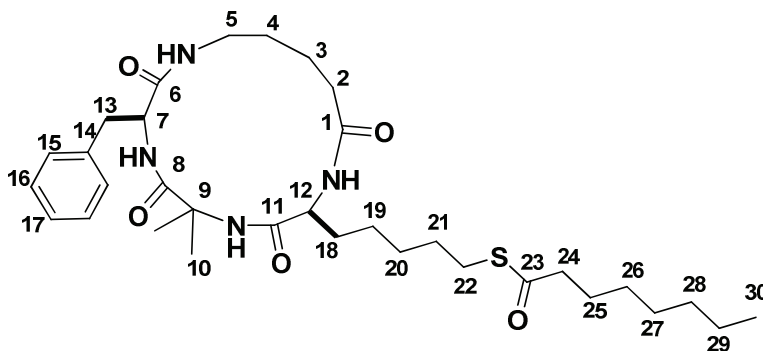
55.2 (CH, C12), 61.7 (C, C10), 126.7 (CH, C17), 128.6 (2×CH, 2×C15), 129.3 (2×CH, 2×C16), 138.2 (C, C14), 171.7 (C, C7), 172.6 (C, C11), 173.2 (C, C9), 175.0 (C, C1), 211.9 (C, C26); **LRMS (ESI+)** m/z (%) 565 (100) $[M+Na]^+$, 543 (10) $[M+H]^+$, 291 (8); **HRMS (ESI+)** m/z found 565.3364. $C_{30}H_{46}N_4O_5Na$ requires 565.3366.

(-)-(3*S*,9*S*)-3-Benzyl-6,6-dimethyl-9-(6-oxooctyl)-1,4,7,10-tetraazacyclopentadecane-2,5,8,11-tetraone (-)-193



According to **Method S**, and starting from (-)-**178** (5 mg, 0.098 mmol), the product (-)-**193** (3 mg, 66%) was obtained after flash chromatography $CH_2Cl_2/MeOH$ (96/4) as colorless laque. R_f = 0.1 (96/4 $CH_2Cl_2/MeOH$); $[\alpha]_D^{20}$ = -56.4 (c = 0.33, $CHCl_3$); **IR** ν_{max} (thin film, CH_2Cl_2) 3311, 2927, 2855, 1646, 1547, 1452, 1361, 1266 cm^{-1} ; **1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 1.05 (t, J = 7.3 Hz, 3H, 3×H25), 1.25–1.45 (m, 9H, 3×H10a, 2×H19, 2×H20, 2×H3), 1.45–1.86 (m, 9H, 3×H10b, 2×H21, 2×H4, 2×H2), 2.05–2.21 (m, 2H, 1×H18a, 1×H18b), 2.39–2.46 (m, 4H, 2×H22, 2×H24), 3.12 (m, 1H, 1×H5a), 3.17 (dd, J = 14.2, 11.0 Hz, 1H, 1×H13a), 3.42 (m, 1H, 1×H5b), 3.46 (dd, J = 14.0, 4.9 Hz, 1H, 1×H13b), 3.91 (m, 1H, 1×H12), 4.49 (m, 1H, 1×H7), 6.19 (s, 1H, NH), 6.44 (bd, J = 6.8 Hz, 1H, NH), 6.50 (bd, J = 9.5 Hz, 1H, NH), 7.16–7.30 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.37 (bd, J = 7.6 Hz, 1H, NH); **^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$)** δ ppm 8.1 (CH_3 , C25), 22.1 (CH_3 , C10a), 23.4 (CH_2 , C21), 24.8 (CH_2 , C19), 25.7 (CH_3 , C10b), 25.9 (CH_2 , C20), 27.6 (CH_2 , C18), 28.7.6 (CH_2 , C3), 29.8 (CH_2 , C4), 35.9 (CH_2 , C2), 36.2 (CH_2 , C24), 36.6 (CH_2 , C13), 38.0 (CH_2 , C22), 42.1 (CH_2 , C5), 54.9 (CH, C7), 55.8 (CH, C12), 58.0 (C, C9), 126.7 (CH, C17), 128.6 (2×CH, 2×C15), 129.5 (2×CH, 2×C16), 138.4 (C, C14), 171.6 (C, C7), 173.3 (C, C11), 173.9 (C, C8), 175.1 (C, C1), 212.0 (C, C23); **HRMS (ESI+)** m/z found 537.3046. $C_{28}H_{42}N_4O_5Na$ requires 537.3047.

(-)-(S)-{5-[(2*S*,8*S*)-8-Benzyl-5,5-dimethyl-3,6,9,15-tetraoxo-1,4,7,10-tetraazacyclopentadecan-2-yl]pentyl} octanethioate [(-)-194]



According to **Method S**, and starting from (-)-**190** (5 mg, 0.098 mmol), (-)-**194** (3 mg, 66%) was obtained after flash chromatography $CH_2Cl_2/MeOH$ (96/4) as colorless laque. R_f = 0.1 (96/4

CH₂Cl₂/MeOH); $[\alpha]_D^{20} = -42.8$ ($c = 0.6$, CHCl₃); IR ν_{\max} (thin film, CH₂Cl₂) 3313, 2925, 2859, 1646, 1548, 1450, 1360, 1266 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, 3×H30), 1.25–1.30 (m, 12H, 2×H28, 2×H27, 2×H26, 2×H25, 2×H19, 2×H20), 1.31 (s, 3H, 3×H10a), 1.32 (s, 3H, 3×H10b), 1.34–1.85 (m, 10H, 2×H29, 1×H4a, 1×H4b, 1×H3a, 1×H3b, 1×H18a, 1×H18b, 2×H21), 2.06–2.24 (m, 2H, H2a, H2b), 2.54 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, 2×H24), 2.85 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, 2×H22), 3.06–3.19 (m, 2H, 1×H5a, 1×H13a), 3.39–3.49 (m, 2H, 1×H5b, H13b), 3.91 (m, 1H, H12), 4.50 (m, 1H, H7), 6.28 (m, 1H, NH), 6.42 (s, 1H, NH), 6.50 (m, 1H, NH), 7.15–7.29 (m, 5H, 2×H15, 2×H16, 1×H17), 7.37 (m, 1H, NH). ¹³C NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 14.3 (CH₃, C30), 22.1 (CH₂, C3), 22.8 (2×CH₂, C29, C19), 24.8 (CH₃, C10a), 25.5 (CH₂, C25), 25.6 (CH₃, C10b), 25.9 (CH₂, C20), 27.6 (CH₂, C27), 28.2 (CH₂, C18), 28.5 (CH₂, CH26), 29.1 (CH₂, C22), 29.5 (CH₂, C4), 30.0 (CH₂, C28), 31.8 (CH₂, C21), 35.8 (CH₂, C5), 36.7 (CH₂, C13), 38.0 (CH, C2), 44.4 (CH₂, C24), 55.0 (CH, C12), 55.6 (CH, C7), 58.0 (C, C9), 126.7 (CH, C17), 128.6 (2×CH, 2×C16), 129.5 (2×CH, 2×C15), 138.4 (C, C14), 171.6 (C, C11), 173.2 (C, C6), 173.9 (C, C1), 175.2 (C, C8), 200.4 (C, C23). LRMS (ESI+) m/z (%) 617 (100) [$M+H$]⁺; HRMS (ESI+) m/z found 617.3729. C₃₃H₅₃N₄O₅S requires 617.3731.

Method T: Procedure for Michael addition monitoring by RMN.

Appendino's conditions:

Aculeatin (10 mg) model **87** was dissolved in DMSO (0.5 mL) in a standard 5 mm NMR tube, and the spectrum was recorded. Then, nucleophile thiol (1, 1.5 or 2 equiv) was added and spectrum was recorded from 5 min after the addition.

Noyori's conditions:

To a solid tampon phosphate pH 7.4 (5.0 mg) was added D₂O (0.5 mL). 0.25 mL of this solution was added to 0.25 mL of MeOD, and the mixture was added to **87** (10 mg). Spectrum NMR was monitoring from 5 min after the addition.

Références bibliographiques

1. Baum, J.; Papenfuss, A. T.; Baum, B.; Speed, T. P.; Cowman, A. F., Regulation of apicomplexan actin-based motility. *Nat. Rev. Microbiol.* **2006**, *4*, 621-628.
2. a) http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/fr/index.html.
b) http://www.rollbackmalaria.org/cmc_upload/0/000/015/363/RBMInfosheet_10fr.htm.
3. http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_RBM_2003.46_fre.pdf.
4. Miller, L. H.; Baruch D. I.; Marsh K.; Doumbo O. K., The pathogenic basis of malaria. *Nature* **2002**, *415*, 673-679.
5. Rapport du groupe de travail *Toxoplasma gondii* de l'Afssa de décembre 2005. Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation ». <http://www.ladocumentationfrancaise.fr/rapports-publics/064000311/index.shtml>.
6. Bessi res, M. H.; Cassaing, S.; Fillaux, J.; Berreb, A., Toxoplasmose et grossesse. *Revue francophone des laboratoires*, **2008**, *402*, 39-50.
7. Quinn, P. J.; McCraw, B. M., Current status of *Toxoplasma* and toxoplasmosis: a review. *Can. Vet. Jour.* **1972**, *13*, 247-262.
8. Ellis J.; Sinclair D.; Morrison D., Microarrays and stage conversion in *Toxoplasma gondii*. *TRENDS in parasitology* **2004**, *20*, 288-295.
9. a) Pfeil, J.; Heiss, K.; Mueller, A.-K. Malaria vaccines based on pre-erythrocytic antigens from *Plasmodium falciparum*. *WO2012076157A2*, **2012**. b) Schuldt, N. J.; Amalfitano, A., Malaria vaccines: Focus on adenovirus based vectors. *Vaccine*, **2012**, *30*, 5191-5198. c) Weiner, D. B.; Sardesai, N. Y. Consensus antigen constructs and vaccines made there from, and methods of using same to treat malaria. *WO2012047679A2*, **2012**. d) Nielsen H. V., Di Cristina M., Beghetto E., Spadoni A., Petersen E., Gargano N., *Toxoplasma gondii*: DNA vaccination with bradyzoite antigens induces protective immunity in mice against oral infection with parasite cysts. *Exp. Parasitol.* **2006**, *112*, 274-279.
10. Bhopale, G. M., Development of a vaccine for toxoplasmosis: current status. *Mic. Infect.* **2003**, *5*, 457-462.
11. D skaya, M.; Kalantari-Dehaghi, M.; Walsh, C. M.; Hyszczynska-Sawicka, E.; Huw Davies, D.; Felgner, P. L.; Larsen, L. S. Z.; Lathrop, R. H.; Wesley Hatfield, G.; Schulz, J. R.; G r z, Y.; Jurnak, F., GRA1 protein vaccine confers better immune response compared to codon-optimized GRA1 DNA vaccine. *Vaccine* **2007**, *25*, 1824-1837.
12. Louren on, E. V.; Bernardes, E. S.; Silva, N. M.; Mineo, J. R.; Panunto-Castelo, A.; Roque-Barreira, M.-C., Immunization with MIC1 and MIC4 induces protective immunity against *Toxoplasma gondii*. *Mic. Infect.* **2006**, *8*, 1244-1251.
13. Delves, M.; Plouffe, D.; Scheurer, C.; Meister, S.; Wittlin, S.; Winzeler, E. A.; Sinden, R. E.; Leroy, D., The activities of current antimalarial drugs on the life cycle stages of *Plasmodium*: a comparative study with human and rodent parasites. *PLoS Med.* **2012**, *10*, e1001169.
14. Pradines, B.; Dormoi, J.; Briolant, S.; Bogreau, H.; Rogier, C., La r sistance aux antipaludiques. *Revue francophone des laboratoires*, **2010**, *422*, 51-62.

15. Touze, J. E.; Fourcade, L.; Pradines, B.; Hovette, P.; Paule, P.; Heno, Ph., Les modes d'action des antipaludiques. Intérêt de l'association atovaquone-proguanil. *Med. Trop.* **2002**, *62*, 219-224.
16. a) Ambroise, T. P., Traitement du paludisme : prévenir les résistances par les associations d'antipaludiques. *Med. Trop.* **2000**, *60*, 219-222. b) Pradines, B.; Vial, H.; Olliaro P., Prophylaxie et traitement du paludisme : problèmes, récents développements et perspectives. *Med. Trop.* **2003**, *63*, 79-98.
17. Danis, M., Avancées thérapeutiques contre le paludisme en 2003. *Med. Trop.* **2003**, *63*, 267-270.
18. Biot, C.; Botté, C. Y.; Dubar, F.; Maréchal, E., Paludisme - Recherche de nouvelles approches thérapeutiques ciblant l'apicoplaste, un organite cellulaire d'origine algale. *méd. Sci.* **2012**, *28*, 163-171.
19. Sullivan, D. J., Jr.; Matile, H.; Ridley, R. G.; Goldberg, D. E., A common mechanism for blockade of heme polymerization by antimalarial quinolines. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 31103-31107.
20. Hoffman, S. L.; Subramanian, G. M.; Collins, F. H.; Venter, J. C., *Plasmodium*, human and *Anopheles* genomics and malaria. *Nature* **2002**, *415*, 702-709.
21. a) Nagamune, K.; Beatty, W. L.; Sibley, D. L., Artemisinin Induces Calcium-dependent Protein Secretion in the Protozoan Parasite *Toxoplasma gondii*. *Eukaryotic Cell* **2007**, *6*, 2147-2156. b) Kawase, O.; Nishikawa, Y.; Bannai, H.; Zhang, H.; Zhang, G.; Jin, S.; Lee, E.; Xuan, X., Proteomic Analysis of Calcium-Dependent Secretion in *Toxoplasma gondii*. *Proteomics* **2007**, *7*, 3718-3725. c) Nagamune, K.; Moreno, S. N. J.; Sibley, D. L., Artemisinin- Resistant Mutants of *Toxoplasma gondii* Have Altered Calcium Homeostasis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 3816-3823. d) Bouchot, A.; Jaillot, J.; Bonhomme, A.; Pezzella-D'Alessandro, N.; Laquerriere, P.; Kilian, L.; Burlet, H.; Gomez-Marin, J.; Pluot, M.; Bonhomme, P.; Pinon, J., Detection and Localization of a Ca²⁺-dependent ATPase Activity in *Toxoplasma gondii*. *Cell Struct. Funct.* **2001**, *26*, 49-60.
22. http://www.infectiologie.org.tn/pdf/cmi/journee_pasteur/toxoplasmose.pdf.
23. Ferreira, R. A.; Oliveira, A. B.; Ribeiro, M. F. B.; Tafuri, W. L.; Vitor, R. W. A., *Toxoplasma gondii*: *in vitro* and *in vivo* activities of the hydroxynaphthoquinone 2-hydroxy-3-(1'-propen-3-phenyl)-1,4-naphthoquinone alone or combined with sulfadiazine. *Exp. Parasitol.* **2006**, *113*, 125-129.
24. Gamo, F.-J.; Sanz, L. M.; Vidal, J.; de Cozar, C.; Alvarez, E.; Lavandera, J.-L.; Vanderwall, D. E.; Green, D. V. S.; Kumar, V.; Hasan, S.; Brown, J. R.; Peishoff, C. E.; Cardon, L. R.; Garcia-Bustos, J. F., Thousands of chemical starting points for antimalarial lead identification. *Nature* **2010**, *465*, 305-310.
25. Guiguemde, W. A.; Shelat, A. A.; Bouck, D.; Duffy, S.; Crowther, G. J.; Davis, P. H.; Smithson, D. C.; Connelly, M.; Clark, J.; Zhu, F.; Jimenez-Diaz, M. B.; Martinez, M. S.; Wilson, E. B.; Tripathi, A. K.; Gut, J.; Sharlow, E. R.; Bathurst, I.; El Mazouni, F.; Fowble, J. W.; Forquer, I.; McGinley, P. L.; Castro, S.; Angulo-Barturen, I.; Ferrer, S.; Rosenthal, P. J.; De Risi, J. L.; Sullivan, D. J., Jr.; Lazo, J. S.; Roos, D. S.; Riscoe, M. K.; Phillips, M. A.; Rathod, P. K.; Van Voorhis, W. C.; Avery, V. M.; Guy, R. K., Chemical genetics of *Plasmodium falciparum*. *Nature* **2010**, *465*, 311-315.
26. Gardner, M. J.; Hall, N.; Fung, E.; White, O.; Berriman, M.; Hyman, R. W.; Carlton, J. M.; Pain, A.; Nelson, K. E.; Bowman, S.; Paulsen, I. T.; James, K.; Eisen, J. A.; Rutherford, K.; Salzberg, S. L.; Craig, A.; Kyes, S.; Chan, M.-S.; Nene, V.; Shallom, S. J.; Suh, B.; Peterson, J.; Angiuoli, S.; Perte, M.; Allen, J.; Selengut, J.; Haft, D.; Mather, M. W.; Vaidya, A. B.; Martin, D. M. A.; Fairlamb, A. H.; Fraunholz, M. J.; Roos, D. S.; Ralph, S. A.; McFadden, G. I.; Cummings, L. M.; Subramanian, G. M.; Mungall, C.; Venter, J. C.; Carucci, D. J.; Hoffman, S. L.; Newbold, C.; Davis, R. W.; Fraser, C. M.,

- Barrell, B., Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature* **2002**, *419*, 498-511.
27. a) Calas, M.; Cordina, G.; Bompard, J.; Ben Bari, M.; Jei, T.; Ancelin, M. L.; Vial, H., Antimalarial activity of molecules interfering with *Plasmodium falciparum* phospholipid metabolism. Structure-activity relationship analysis. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3557-3566. b) Calas, M.; Ancelin, M. L.; Cordina, G.; Portefaix, P.; Piquet, G.; Vidal-Sailhan, V.; Vial, H., Antimalarial activity of compounds interfering with *Plasmodium falciparum* phospholipid metabolism: comparison between mono- and bisquaternary ammonium salts. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 505-516.
28. Wengelnik, K.; Vidal, V.; Ancelin, M. L.; Cathiard, A.-M.; Morgat, J.-L.; Kocken, C. H.; Calas, M.; Herrera, S.; Thomas, A. W.; Vial, H., A class of potent antimalarials and their specific accumulation in infected erythrocytes. *Science* **2002**, *295*, 1311-1314.
29. Waller, R. F.; Keeling, P. J.; Donald, R. G., Nuclear-encoded proteins target to the plastid in *Toxoplasma gondii* and *Plasmodium falciparum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1998**, *95*, 12352-12357.
30. Jomaa, H.; Wiesner, J.; Sanderbrand, S., Inhibitors of the nonmevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis as antimalarial drugs. *Science* **1999**, *285*, 1573-1576.
31. Van Dooren, G. G.; Marti, M.; Tonkin, C. J., Development of the endoplasmic reticulum, mitochondrion and apicoplast during the asexual life cycle of *Plasmodium falciparum*. *Mol. Microbiol.* **2005**, *57*, 405-419.
32. Seeber, F., Biosynthetic pathways of plastid-derived organelles as potential drug targets against parasitic Apicomplexa. *Curr. Drug. Targets Immune Endocr. Metabol. Disord.* **2003**, *3*, 99-109.
33. Andrews, K. T.; Tran, T. N.; Fairlie, D. P., Towards histone deacetylase inhibitors as new antimalarial drugs. *Curr. Pharm. Des.* **2012**, *18*, 3467-3479.
34. a) Ridley R. G., Medical need, scientific opportunity and the drive for antimalarial drugs. *Nature* **2002**, *415*, 686-693. b) Rosenthal P. J., Antimalarial drug discovery: old and new approaches. *J. Exp. Biol.* **2003**, *206*, 3735-3744.
35. Guiguemde, W. A.; Shelat, A. A.; Garcia-Bustos, J. F.; Diagana, T. T.; Gamo, F.-J.; Guy, R. K., Global Phenotypic Screening for Antimalarials. *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 116-129.
36. <https://www.ebi.ac.uk/chemblntd>
37. Bertani, S.; Houel, E.; Jullian, V.; Bourdy, G.; Valentin, A.; Stien, D.; Deharo, E., New findings on Simalikalactone D, an antimalarial compound from *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). *Exp. Parasitol.* **2012**, *130*, 341-347.
38. Gademann, K.; Kobylinska, J., Antimalarial natural products of marine and freshwater origin. *Chem. Rec.* **2009**, *9*, 187-198.
39. Hirai, S.; Kikuchi, H.; Kim, H.-S.; Begum, K.; Wataya, Y.; Tasaka, H.; Miyazawa, Y.; Yamamoto, K.; Oshima, Y., Metabolites of febrifugine and its synthetic analogue by mouse liver S9 and their antimalarial activity against *Plasmodium* malaria parasite. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4351-4359.
40. Sathe, M.; Kaushik, M. P., Gomphostenins: Two new antimalarial compounds from the leaves of *Gomphostemma niveum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 1312-1314.

41. Heilmann, J.; Mayr, S.; Brun, R.; Rali, T.; Sticher, O., Antiprotozoal activity and cytotoxicity of novel 1,7-dioxadispiro[5.1.5.2]pentadeca-9,12-dien-11-one derivatives from *Amomum aculeatum*. *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 2939-2945.
42. Heilmann, J.; Brun, R.; Mayr, S.; Rali, T.; Sticher, O., Minor cytotoxic and antibacterial compounds from the rhizomes of *Amomum aculeatum*. *Phytochemistry* **2001**, *57*, 1281-1285.
43. Salim, A. A.; Su, B.-N.; Chai, H.-B.; Riswan, S.; Kardono, L. B. S.; Ruskandi, A.; Farnsworth, N. R.; Swanson, S. M.; Kinghorn, A. D., Dioxadispiroketal compounds and a potential acyclic precursor from *Amomum aculeatum*. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 1849-1853.
44. Chin, Y.-W.; Salim, A. A.; Su, B.-N.; Mi, Q.; Chai, H.-B.; Riswan, S.; Kardono, L. B. S.; Ruskandi, A.; Farnsworth, N. R.; Swanson, S. M.; Kinghorn, A. D., Potential anticancer activity of naturally occurring and semisynthetic derivatives of aculeatins A and B from *Amomum aculeatum*. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 390-395.
45. Peuchmaur, M.; Saidani, N.; Botte, C.; Marechal, E.; Vial, H.; Wong, Y.-S., Enhanced antimalarial activity of novel synthetic aculeatin derivatives. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4870-4873.
46. Wong, Y.-S., Synthesis of (+)-aculeatins A and B. *Chem. Commun.* **2002**, 686-687.
47. Baldwin, J. E.; Adlington, R. M.; Sham, V. W. W.; Marquez, R.; Bulger, P. G., Biomimetic synthesis of (+)-aculeatin D. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 2353-2363.
48. Alvarez-Bercedo, P.; Falomir, E.; Carda, M.; Marco, J. A., Enantioselective synthesis and absolute configurations of aculeatins A, B, D, and 6-*epi*-aculeatin D. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 9641-9649.
49. Peuchmaur, M.; Wong, Y.-S., Diastereodivergent strategies for the synthesis of homochiral aculeatins. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5374-5379.
50. Chandrasekhar, S.; Rambabu, C.; Shyamsunder, T., Total synthesis of aculeatins A and B via a tethered oxa-Michael approach. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 4683-4685.
51. Malathong, V.; Rychnovsky, S. D., Polyol Synthesis with beta -oxyanionic alkyllithium reagents: syntheses of aculeatins A, B, and D. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4220-4223.
52. Yadav, J. S.; Rao, Y. G.; Chandrakanth, D.; Ravindar, K.; Reddy, B. V. S., Total synthesis of aculeatins A and B from L-Malic acid. *Helv. Chim. Acta.* **2010**, *93*, 2426-2432.
53. Yadav, J. S.; Thrimurtulu, N.; Venkatesh, M.; Prasad, A. R., The stereoselective total synthesis of aculeatin A and B via Prins cyclization. *Synthesis* **2010**, 431-436.
54. Harbindu, A.; Kumar, P., Synthesis of aculeatins A and B via iterative hydrolytic kinetic resolution. *Synthesis* **2010**, 1479-1484.
55. Das, B.; Krishnaiah, M.; Sudhakar, C., Synthetic studies on natural products. Part 73. Stereoselective synthesis of bioactive natural spiroacetals aculeatins A and B. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *20*, 2303-2305.
56. Ramana, C. V.; Pandey, S. K., A modular total synthesis of aculeatins A, B, E, F and 6-*epi*-aculeatins E, F. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 390-399.
57. a) Avila, A. M.; Burnett, B. G.; Taye, A. A.; Gabanella, F.; Knight, M. A.; Hartenstein, P.; Cizman, Z.; Di Prospero, N. A.; Pellizzoni, L.; Fischbeck, K. H.; Sumner, C. J., Trichostatin A increases SMN expression and survival in a mouse model of spinal muscular atrophy. *J. Clin. Invest.* **2007**, *117*, 659-671. b) Lin, H. S.; Hu, C. Y.; Chan, H. Y.; Liew, Y. Y.; Huang, H. P.; Lepescheux, L.;

Bastianelli, E.; Baron, R.; Rawadi, G.; Clement-Lacroix, P., Anti-rheumatic activities of histone deacetylase (HDAC) inhibitors *in vivo* in collagen-induced arthritis in rodents. *Br. J. Pharmacol.* **2007**, *150*, 862-872.

58. a) Fierz, B.; Muir, T. W., Chromatin as an expansive canvas for chemical biology. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, *8*, 417-427. b) Bolden, J. E.; Peart, M. J.; Johnstone, R. W., Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2006**, *5*, 769-784.

59. a) Bougdour, A.; Braun, L.; Cannella, D.; Hakimi, M.-A., Chromatin modifications: implications in the regulation of gene expression in *Toxoplasma gondii*. *Cell. Microbiol.* **2010**, *12*, 413-423. b) Saksouk, N.; Bhatti, M. M.; Kieffer, S.; Smith, A. T.; Musset, K.; Garin, J.; Sullivan, W. J., Jr.; Cesbron-Delauw, M.-F.; Hakimi, M.-A., Histone-modifying complexes regulate gene expression pertinent to the differentiation of the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. *Mol. Cell. Biol.* **2005**, *25*, 10301-10314. c) Sullivan, W. J.; Hakimi, M.-A., Histone mediated gene activation in *Toxoplasma gondii*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2006**, *148*, 109-116.

60. Roth, S. Y.; Denu, J. M.; Allis, C. D., Histone acetyltransferases. *Annu. Rev. Biochem.* **2001**, *70*, 81-120.

61. Narlikar, G. J.; Fan, H.; Y.; Kingston, R.; E., Cooperation between complexes that regulate chromatin structure and transcription. *Cell.* **2002**, *108*, 475-487.

62. Allfrey, V. G.; Faulkner, R.; Mirsky, A. E., Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of ribonucleic acid (RNA) synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1964**, *51*, 786-94.

63. Delage, B.; Dashwood, R. H. In *Nutrients*, histone modifications, and chromatin remodeling in chronic inflammation. *J. Nutr.* **2009**, *139*, 2393-2396.

64. Lacoste, N.; Côté, J., *méd. Sci.* **2003**, *19*, 955-959.

65. Jenuwein, T.; Allis, C. D., Translating the histone code. *Science* **2001**, *293*, 1074-80.

66. Newkirk, T. L.; Bowers, A. A.; Williams, R. M., Discovery, biological activity, synthesis and potential therapeutic utility of naturally occurring histone deacetylase inhibitors. *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 1293-1320.

67. Watson, P. J.; Fairall, L.; Santos, G. M.; Schwabe, J. W. R., Structure of HDAC3 bound to co-repressor and inositol tetrakisphosphate. *Nature*, **2012**, *481*, 335-340.

68. Vickers, C. J.; Olsen, C. A.; Leman, L. J.; Ghadiri, M. R., Discovery of HDAC inhibitors that lack an active site Zn²⁺-binding functional group. *ACS Med. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 505-508.

69. Mori, H.; Urano, Y.; Kinoshita, T.; Yoshimura, S.; Takase, S.; Hino, M., FR235222, a fungal metabolite, is a novel immunosuppressant that inhibits mammalian histone deacetylase. III. Structure determination. *J. Antibiot.* **2003**, *56*, 181-185.

70. Bougdour, A.; Maubon, D.; Baldacci, P.; Ortet, P.; Bastien, O.; Bouillon, A.; Barale, J.-C.; Pelloux, H.; Menard, R.; Hakimi, M.-A., Drug inhibition of HDAC3 and epigenetic control of differentiation in Apicomplexa parasites. *J. Exp. Med.* **2009**, *206*, 953-966.

71. a) Ying, Y.; Taori, K.; Kim, H.; Hong, J.; Luesch, H., Total synthesis and molecular target of largazole, a histone deacetylase inhibitor. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8455-8459. b) Taori, K.; Paul, V. J.; Luesch, H., Structure and activity of largazole, a potent antiproliferative agent from the floridian marine cyanobacterium *Symploca sp.* *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1806-1807. c) Bowers, A. A.;

West, N.; Newkirk, T. L.; Troutman-Youngman, A. E.; Schreiber, S. L.; Wiest, O.; Bradner, J. E.; Williams, R. M., Synthesis and histone deacetylase inhibitory activity of largazole analogs: alteration of the zinc-binding domain and macrocyclic scaffold. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1301-1304.

72. Bowers, A.; West, N.; Taunton, J.; Schreiber, S. L.; Bradner, J. E.; Williams, R. M., Total synthesis and biological mode of action of largazole: A potent Class I histone deacetylase inhibitor. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11219-11222.

73. Liu, Y.; Salvador, L. A.; Byeon, S.; Ying, Y.; Kwan, J. C.; Law, B. K.; Hong, J.; Luesch, H., Anticancer activity of largazole, a marine-derived tunable histone deacetylase inhibitor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2010**, *335*, 351-361.

74. a) Nishino, N.; Jose, B.; Okamura, S.; Ebisusaki, S.; Kato, T.; Sumida, Y.; Yoshida, M., Cyclic Tetrapeptides Bearing a Sulfhydryl Group Potently Inhibit Histone Deacetylases. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 5079-5082. b) Huang, D.; Li, X.; Sun, L.; Xiu, Z.; Nishino, N. Synthesis, evaluation and molecular modeling of cyclic tetrapeptide histone deacetylase inhibitors as anticancer agents. *J. Pept. Sci.* **2012**, *18*, 242-251. c) Islam, M. S.; Bhuiyan, M. P. I.; Islam, M. N.; Nsima, T. K.; Oishi, N.; Kato, T.; Nishino, N.; Ito, A.; Yoshida, M., Evaluation of functional groups on amino acids in cyclic tetrapeptides in histone deacetylase inhibition. *Amino Acids* **2012**, *42*, 2103-2110. d) Hoque, M. A.; Nishino, N.; Kim, H.-J.; Ito, A.; Yoshida, M., Bicyclic tetrapeptides with disulfide as histone deacetylase inhibitors. *J. Pept. Sci.* **2010**, *47*, 243.

75. a) Suzuki, T.; Kouketsu, A.; Itoh, Y.; Hisakawa, S.; Maeda, S.; Yoshida, M.; Nakagawa, H.; Miyata, N., Highly Potent and Selective Histone Deacetylase 6 Inhibitors Designed Based on a Small-Molecular Substrate. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 4809-4812. b) Itoh, Y.; Suzuki, T.; Kouketsu, A.; Suzuki, N.; Maeda, S.; Yoshida, M.; Nakagawa, H.; Miyata, N., Design, synthesis, structure-selectivity relationship, and effect on human cancer cells of a novel series of histone deacetylase 6-selective inhibitors. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5425-5438.

76. Hong, J.; Luesch, H., Largazole: From discovery to broad-spectrum therapy. *Nat. Prod. Rep.* **2012**, *29*, 449-456.

77. Cole, K. E.; Dowling, D. P.; Boone, M. A.; Phillips, A. J.; Christianson, D. W., Structural Basis of the Antiproliferative Activity of Largazole, a Depsipeptide Inhibitor of the Histone Deacetylases. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12474-12477.

78. Wang, C.; Henkes, L. M.; Doughty, L. B.; He, M.; Wang, D.-F.; Meyer-Almes, F.-J.; Cheng, Y.-Q., Thailandepsins: Bacterial Products with Potent Histone Deacetylase Inhibitory Activities and Broad-Spectrum Antiproliferative Activities. *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 2031-2038.

79. a) Haggarty, S. J.; Koeller, K. M.; Wong, J. C.; Grozinger, C. M.; Schreiber, S. L., Domain-selective small-molecule inhibitor of histone deacetylase 6 (HDAC6)-mediated tubulin deacetylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100*, 4389-4394. b) Tran, A. D.-A.; Marmo, T. P.; Salam, A. A.; Che, S.; Finkelstein, E.; Kabarriti, R.; Xenias, H. S.; Mazitschek, R.; Hubbert, C.; Kawaguchi, Y.; Sheetz, M. P.; Yao, T.-P.; Bulinski, J. C., HDAC6 deacetylation of tubulin modulates dynamics of cellular adhesions. *J. Cell. Sci.* **2007**, *120*, 1469-1479.

80. a) Bali, P.; Pranpat, M.; Bradner, J.; Balasis, M.; Fiskus, W.; Guo, F.; Rocha, K.; Kumaraswamy, S.; Boyapalle, S.; Atadja, P.; Seto, E.; Bhalla, K. Inhibition of histone deacetylase 6 acetylates and disrupts the chaperone function of heat shock protein 90: a novel basis for antileukemia activity of histone deacetylase inhibitors. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 26729-26734. b) Hubbert, C.; Guardiola, A.;

Shao, R.; Kawaguchi, Y.; Ito, A.; Nixon, A.; Yoshida, M.; Wang, X.; Yao, T. HDAC6 is a microtubule-associated deacetylase. *Nature* **2002**, *417*, 455-458.

81. Xie, W.; Zou, B.; Pei, D.; Ma, D., Total Synthesis of Cyclic Tetrapeptide FR235222, a potent immunosuppressant that inhibits mammalian histone deacetylases. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2775-2777.

82. Rodriguez, M.; Terracciano, S.; Cini, E.; Settembrini, G.; Bruno, I.; Bifulco, G.; Taddei, M.; Gomez-Paloma, L., Total synthesis, NMR solution structure, and binding model of the potent histone deacetylase inhibitor FR235222. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 423-427.

83. auron, J.; Hassig, C. A.; Schreiber, S. L., A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p. *Science* **1996**, *272*, 408-411.

84. a) Kuriyama, W.; Kitahara, T., Synthesis of apicidin. *Heterocycles* **2001**, *55*, 1835. b) Mou, L.; Singh, G., Synthesis of (*S*)-2-amino-8-oxodecanoic acid (Aoda) and apicidin A. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6603-6606.

85. Wen, S.; Carey, K. L.; Nakao, Y.; Fusetani, N.; Packham, G.; Ganesan, A., Total synthesis of azumamide A and azumamide E, evaluation as histone deacetylase inhibitors, and design of a more potent analog. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1105-1108.

86. Ying, Y.; Liu, Y.; Byeon, S. R.; Kim, H.; Luesch, H.; Hong, J., Synthesis and activity of largazole analogues with linker and macrocycle modification. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4021-4024.

87. Terracciano, S.; Di Micco, S.; Bifulco, G.; Gallinari, P.; Raffaele Riccio, R.; Ines Bruno, I., Synthesis and biological activity of cyclotetrapeptide analogues of the natural HDAC inhibitor FR235222. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 3252-3260.

88. Nicolaou, K. C.; Simonsen, K. B.; Vassilikogiannakis, G.; Baran, P. S.; Vidali, V. P.; Pitsinos, E. N.; Couladouros, E. A., Biomimetic explorations towards the bisorbicillinoids: total synthesis of bisorbicillinol, bisorbibutenolide, and trichodimerol. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 3555-3559.

89. a) Roche, S. P.; Porco, J. A., Jr., Dearomatization strategies in the synthesis of complex natural products. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 4068-4093. b) Pouysegu, L.; Deffieux, D.; Quideau, S., Hypervalent iodine-mediated phenol dearomatization in natural product synthesis. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 2235-2261. c) Pouysegu, L.; Sylla, T.; Garnier, T.; Rojas, L. B.; Charris, J.; Deffieux, D.; Quideau, S., Hypervalent iodine-mediated oxygenative phenol dearomatization reactions. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 5908-5917.

90. Berube, A.; Drutu, I.; Wood, J. L., Progress toward the total synthesis of bacchopetiolone: application of a tandem aromatic oxidation/Diels-Alder reaction. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5421-5424.

91. a) Quideau, S.; Lebon, M.; Lamidey, A. M., Enantiospecific synthesis of the antituberculosis marine sponge metabolite (+)-Puupehenone. The arenol oxidative activation route. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3975-3978. b) Pouysegu, L.; Chassaing, S.; Dejuguac, D.; Lamidey, A. M.; Miqueu, K.; Sotiropoulos, J. M.; Quideau, S., *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3608-3611. c) *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 3552 – 3555.

92. Mizutani, H.; Takayama, J.; Soeda, Y.; Honda, T., Facile synthesis of enantiopure (-)-TAN1251A. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2411-2414.

93. Scheffler, G.; Seike, H.; Sorensen, E. J., An enantiospecific synthesis of the potent immunosuppressant FR901483. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 4593-4596.

94. a) Dohi, T.; Minamitsuji, Y.; Maruyama, A.; Hirose, S.; Kita, Y., A new H₂O₂/acid anhydride system for the iodoarene-catalyzed C-C bond-forming reactions of phenols. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3559-3562. b) Kita, Y.; Takada, T.; Gyoten, M.; Tohma, H.; Zenk, M. H.; Eichhorn, J., An oxidative intramolecular phenolic coupling reaction for the synthesis of amaryllidaceae alkaloids using a hypervalent iodine(III) reagent. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 5857-5864.
95. Nicolaou, K. C.; Tria, G. S.; Edmonds, D. J.; Kar, M., Total syntheses of (±)-Platencin and (-)-Platencin. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15909-15917.
96. Andrez, J.-C.; Giroux, M.-A.; Lucien, J.; Canesi, S., Rapid formation of hindered cores using an oxidative Prins process. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4368-4371.
97. Barjau, J.; Konigs, P.; Kataeva, O.; Waldvogel, S. R., Reinvestigation of highly diastereoselective pentacyclic spirolactone formation by direct anodic oxidation of 2,4-dimethylphenol. *Synlett* **2008**, 2309-2312.
98. Swenton, J. S.; Callinan, A.; Chen, Y.; Rohde, J. J.; Kerns, M. L.; Morrow, G. W., Intramolecular anodic carbon-carbon bond formation from oxidized phenol intermediates. Effect of oxygenated substituents on the yields of ipiro dienones in electrochemical and iodobenzene diacetate oxidations. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1267-74.
99. Desjardins, S.; Andrez, J.-C.; Canesi, S., A stereoselective oxidative polycyclization process mediated by a hypervalent iodine reagent. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3406-3409.
100. a) Turner, C. D.; Ciufolini, M. A., Oxidation of oximes with hypervalent iodine reagents: opportunities, development, and applications. *ARKIVOC*, **2011**, 410-428. b) Mendelsohn, B. A.; Lee, S.; Kim, S.; Teyssier, F.; Aulakh, V. S.; Ciufolini, M. A., Oxidation of oximes to nitrile oxides with hypervalent iodine reagents. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1539-1542.
101. Frie, J. L.; Jeffrey, C. S.; Sorensen, E. J., A hypervalent iodine-induced double annulation enables a concise synthesis of the pentacyclic core structure of the cortistatins. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5394-5397.
102. Nokami, J.; Ohga, M.; Nakamoto, H.; Matsubara, T.; Hussain, I.; Kataoka, K., The first and highly enantioselective crotylation of aldehydes via an allyl-transfer reaction from a chiral crotyl-donor. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9168-9169.
103. Dong, L.; Schill, H.; Grange, R. L.; Porzelle, A.; Johns, J. P.; Parsons, P. G.; Gordon, V. A.; Reddell, P. W.; Williams, C. M., Anticancer agents from the Australian tropical rainforest: spiroacetals EBC-23, 24, 25, 72, 73, 75 and 76. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 11307-11318.
104. Ochiai, M.; Takeuchi, Y.; Katayama, T.; Sueda, T.; Miyamoto, K., Iodobenzene-catalyzed alpha -acetoxylation of ketones. *in situ* generation of hypervalent (diacyloxyiodo)benzenes using *m*-chloroperbenzoic acid. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12244-12245.
105. Dohi, T.; Maruyama, A.; Yoshimura, M.; Morimoto, K.; Tohma, H.; Kita, Y., Versatile hypervalent-iodine(III)-catalyzed oxidations with *m*-chloroperbenzoic acid as a cooxidant. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 6193-6196.
106. Dohi, T.; Ito, M.; Morimoto, K.; Iwata, M.; Kita, Y., Oxidative cross-coupling of arenes induced by single-electron transfer leading to biaryls by use of organoiodine(III) oxidants. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1301-1304.

- 107.** Uyanik, M.; Yasui, T.; Ishihara, K., Enantioselective Kita oxidative spirolactonization catalyzed by *in situ* generated chiral hypervalent iodine(III) species. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 2175-2177.
- 108.** Soga, O.; Iwamoto, H.; Date, S.; Watanabe, T.; Tanaka, K.; Hata, K.; Takuwa, A.; Nakayama, M., Isolation and structure of a new natural cyclohexadienone derivative, wasabidienone A, from potato culture solution of *Phoma wasabiae* YOKOGI. *Chem. Lett.* **1984**, 339-340.
- 109.** Shibata, K.; Satsumabayashi, S.; Sano, H.; Komiyama, K.; Nakagawa, A.; Omura, S., Chemical modification of herbimycin A. Synthesis and *in vivo* antitumor activities of halogenated and other related derivatives of herbimycin A. *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 415-423.
- 110.** Xie, C.-F.; Qu, J.-B.; Sun, B.; Guo, H.-F.; Lou, H.-X., Dumhirone A, an unusual phenylethyl cyclohexadienone fom the Chinese liverwort *Dumortiera hirsuta*. *Biochem. Sys. Ecol.* **2007**, *35*, 162-165.
- 111.** Boger, D. L.; Turnbull, P., Synthesis and evaluation of CC-1065 and duocarmycin analogs incorprating the 1,2,3,4,11,11a-hexahydrocyclopropa[c]naphtha[2,1-b]azepin-6-one (CNA) alkylation subunit: structural features that govern reactivity and reaction regioselectivity. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 5849-5863.
- 112.** Cancer Research Technology Limited, 4-(1-(sulfonyl)-1H-indol-2-yl)-4-(hydroxy)-cyclohexa-2,5-dienone compounds and analogs thereof as therapeutic agents. *WO2004/056361 A1* (08.07.2004).
- 113.** Park, B. K.; Boobis, A.; Clarke, S.; Goldring, C. E. P.; Jones, D.; Kenna, J. G.; Lambert, C.; Lavery, H. G.; Naisbitt, D. J.; Nelson, S.; Nicoll-Griffith, D. A.; Obach, R. S.; Routledge, P.; Smith, D. A.; Tweedie, D. J.; Vermeulen, N.; Williams, D. P.; Wilson, I. D.; Baillie, T. A., Managing the challenge of chemically reactive metabolites in drug development. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2011**, *10*, 292-306.
- 114.** Amslinger, S. The tunable functionality of α,β -unsaturated carbonyl compounds enables their differential application in biological systems. *Chem. Med. Chem.* **2010**, *5*, 351-356.
- 115.** a) Singh, J.; Petter, R. C.; Baillie, T. A.; Whitty, A., The resurgence of covalent drugs. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2011**, *10*, 307-317. b) Kalgutkar, A. S.; Dalvie, D. K., Drug discovery for a new generation of covalent drugs. *Expert Opin. Drug Discovery* **2012**, *7*, 561-581.
- 116.** Lee, C. U.; Grossmann, T. N., Reversible covalent inhibition of a protein target. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, *51*, 8699-8700.
- 117.** Suzuki, M.; Mori, M.; Niwa, T.; Hirata, R.; Furuta, K.; Ishikawa, T.; Noyori, R., Chemical implications for antitumor and antiviral Prostaglandins: Reaction of 7-Prostaglandin A1 and Prostaglandin A1 methyl esters with thiols. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2376-2385.
- 118.** Couch, R. D.; Browning, R. G.; Honda, T.; Gribble, G. W.; Wright, D. L.; Spornb, M. B.; Andersona, A. C., Studies on the reactivity of CDDO, a promising new chemopreventive and chemotherapeutic agent: implications for a molecular mechanism of action. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005** *15*, 2215-2219.
- 119.** Avonto, C.; Taglialatela-Scafati, O.; Pollastro, F.; Minassi, A.; Di Marzo, V.; De Petrocellis, L.; and Appendino, G., An NMR spectroscopic method to identify and classify thiol-trapping agents: revival of michael acceptors for drug discovery. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 467-471.

- 120.** Muller, S.; Gilberger, T. W.; Krnajski, Z.; Luersen, K.; Meierjohann, S.; Walter, R. D., Thioredoxin and glutathione system of malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Protoplasma* **2001**, *217*, 43-49.
- 121.** Lion, C. J.; Matthews, C. S.; Wells, G.; Bradshaw, T. D.; Stevens, M. F. G.; Westwell, A. D., Antitumour properties of fluorinated benzothiazole-substituted hydroxycyclohexa-2,5-dienones (quinols). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 5005-5008.
- 122.** a) Hall, G.; Bradshaw, T. D.; Laughton, C. A.; Stevens, M. F.; Emsley, J., Structure of Mycobacterium tuberculosis thioredoxin in complex with quinol inhibitor PMX464. *Protein Sci.* **2011**, *20*, 210-215. b) Dai, Y.-S.; Xu, J.; Molkentin, J. D., The DnaJ-related factor Mrj interacts with nuclear factor of activated T cells c3 and mediates transcriptional repression through class II histone deacetylase recruitment. *Mol. Cell. Biol.* **2005**, *25*, 9936-9948.
- 123.** Shchepin, R.; Moller, M. N.; Kim, H.-y. H.; Hatch, D. M.; Bartsaghi, S.; Kalyanaraman, B.; Radi, R.; Porter, N. A., Tyrosine-Lipid Peroxide Adducts from Radical Termination: Para Coupling and Intramolecular Diels-Alder Cyclization. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 17490-17500.
- 124.** Hosoya, T.; Hiramatsu, T.; Ikemoto, T.; Nakanishi, M.; Aoyama, H.; Hosoya, A.; Iwata, T.; Maruyama, K.; Endo, M.; Suzuki, M., Novel bifunctional probe for radioisotope-free photoaffinity labeling: compact structure comprised of photospecific ligand ligation and detectable tag anchoring units. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 637-641.
- 125.** Zard, S. Z., On the trail of xanthates: some new chemistry from an old functional group. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1997**, *36*, 673-685.
- 126.** a) Jackson, R. F. W.; Perez-Gonzalez, M., Synthesis of N-(*tert*-butoxycarbonyl)- β -iodoalanine methyl ester: A useful building block in the synthesis of nonnatural α -amino acids via palladium catalyzed cross coupling reactions. *Org. Synth.* **2005**, *81*, 77-88. b) Shimasaki, Y.; Kiyota, H.; Sato, M.; Kuwahara, S., Synthesis of (S)-gizzerosine, a potent inducer of gizzard erosion in chicks. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 9628-9634.
- 127.** a) Belokon, Y. N.; Zel'tser, I. E.; Bakmutov, V. I.; Saporovskaya, M. B.; Ryzhov, M. G.; Yanovskii, A. I.; Struchkov, Y. T.; Belikov, V. M., Asymmetric synthesis of threonine and partial resolution and retroracemization of α -amino acids via copper(II) complexes of their Schiff bases with (S)-2-N-(N'-benzylpropyl)aminobenzaldehyde and (S)-2-N-(N'-benzylpropyl)aminoacetophenone. Crystal and molecular structure of a copper(II) complex of glycine Schiff base with (S)-2-N-(N'-benzylpropyl)aminoacetophenone. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2010-2017. b) Hung, K.-y.; Harris, P. W. R.; Brimble, M. A., Synthesis of Methyl N-Boc-(2S,4R)-4-methylpipecolate. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 8728-8731.
- 128.** Huang, D.; Li, X.; Sun, L.; Xiu, Z.; Nishino, N., Synthesis, evaluation and molecular modeling of cyclic tetrapeptide histone deacetylase inhibitors as anticancer agents. *J. Pept. Sci.* **2012**, *18*, 242-251.
- 129.** a) Seebach, D.; Naef, R., Enantioselective generation and diastereoselective reactions of chiral enolates derived from α -heterosubstituted carboxylic acids. Preliminary communication. *Helv. Chim. Acta* **1981**, *64*, 2704-2708. b) Nebel, K.; Mutter, M., Stereoselective synthesis of isovaline (IVA) and IVA-containing dipeptides for use in peptide synthesis. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 4793-4796. c) Tomooka, K.; Sakamaki, J.; Harada, M.; Wada, R., Enantioselective [1,2]-Stevens rearrangement using sugar-derived alkoxides as chiral promoters. *Synlett* **2008**, 683-686.
- 130.** Hsiao, Y.; Hegedus, L. S., Synthesis of Optically Active Imidazolines, Azapenams, Dioxocyclams, and Bis-dioxocyclams. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3586-3591.

- 131.** Barluenga, J.; Baragana, B.; Alonso, A.; Concellon, J. M., The first direct preparation of chiral functionalized ketones and their synthetic uses. *Chem. Commun.* **1994**, 969-970.
- 132.** Molander, G. A.; Hahn, G., Lanthanides in organic synthesis. 2. Reduction of α -heterosubstituted ketones. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1135-1138.
- 133.** Kopp, F.; Stratton, C. F.; Akella, L. B.; Tan, D. S., A diversity-oriented synthesis approach to macrocycles via oxidative ring expansion. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, *8*, 358-365.
- 134.** Honda, T.; Ishikawa, F., Reductive deamination of α -amino carbonyl compounds by means of samarium iodide. *Chem. Commun.* **1999**, 1065-1066.

Communications des travaux de thèses

↳ Publications scientifiques

2) Traoré, M.; Maynadier, M.; Souard, F.; Choisnard, L.; Vial, H.; Wong, Y.-S. *J. Org. Chem.*, **2011**, 76, 1409-1417.

3) Traoré, M.; Ahmed-Ali, S.; Peuchmaur, M.; Wong, Y.-S. *Tetrahedron*, **2010**, 66, 5863-5872.

↳ Communications orales

08/2012 : “Concise routes for expanding the diversity of selective cyclopeptides histone deacetylase inhibitors” au congrès international 4th EuCheMs (Prague, République Tchèque)

06/2011 : “Synthèse de nouveaux composés antipaludique” à la Journée de la Société Chimique de France (Chambéry, France)

09/ 2010: “Use of Hypervalent Iodine in Tandem Reactions, The Catalytic Approach” au congrès international 3th EuCheMS (Nuremberg, Germany)

↳ Communications par affiches

07/2011 : “Tandem oxidative reactions mediated by hypervalent iodine (III) for the synthesis of new potent antimalarial products” au congrès international 17th ESOC “European Symposium of Organic Chemistry” (Crete, Grèce)

07/2010 : “Use of Hypervalent Iodine in Cascade Reaction, First Synthesis of Enantiopure Amomols A and B” au congrès international 3th ICHIC “International Conference on Hypervalent Iodine Chemistry” (Bordeaux, France)

05/2009 : Synthèse des amomols, à la journée Société Chimique de France (Lyon, France)

05/2008 : Synthèse de nouveaux composés antipaludiques, à la journée Société Chimique de France (Grenoble, France)

Synthèses et évaluations biologiques de nouveaux composés antipaludiques et antitoxoplasmoses

Mots clés : paludisme, toxoplasmose, oxydation phénolique, réactif à l'iode hypervalent (III), réactions cascades et tandem, réactions radicalaires.

Résumé :

Le paludisme est la maladie parasitaire la plus meurtrière qui touche 3,3 milliards de personnes (la moitié de la population mondiale). En 2010, le nombre des décès dus au paludisme a été estimé à 655 mille, dont 91% des cas concerne le continent africain. Ce sont les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans (86% des décès) qui sont les plus vulnérables. Pour les pays africains le paludisme est non seulement une maladie due à la pauvreté, mais il est également la cause de la pauvreté. Face à ce fléau qui fait beaucoup de ravage dans les pays pauvres, il est urgent de trouver de nouveaux traitements efficaces et accessibles aux populations concernées. D'autre part, la toxoplasmose est une maladie parasitaire qui touche principalement les pays industrialisés (50% de la population française). Cette parasitose souvent bénigne chez les personnes immunocompétentes, est qualifiée de maladie opportuniste, car elle peut s'avérer dangereuse chez les femmes enceintes et chez les patients immunodéprimés (personnes atteintes du SIDA ou ayant subi des transplantations d'organe).

Les parasites responsables de paludisme (*P. falciparum*) et de la toxoplasmose (*T. gondii*) appartiennent à la grande famille des apicomplexes, qui sont des organismes unicellulaires. Afin de concevoir de nouveaux composés antipaludiques et antitoxoplasmoses, nous nous sommes inspirés de produits d'origine naturelle qui sont les aculéatines et les cyclotétrapeptides analogues de FR235222. Afin d'optimiser les propriétés antiparasitaires de ces produits naturels, nous avons développé des méthodes de synthèse rapides en peu d'étapes. Des nouveaux analogues des aculéatines ont été obtenus en utilisant une stratégie de réactions en cascade et tandem d'oxydation phénolique induites par les réactifs à l'iode hypervalent (III). Des réactions de chimie radicalaire avec les xanthates et thioesters ont permis d'obtenir une grande diversité de cyclotétrapeptides analogues de FR235222. Les activités antiparasitaires des différents analogues obtenus ont été évaluées et certains se sont révélés actifs de l'ordre du nanomolaire.

Synthesis and biological evaluations of new antimalarial and antitoxoplasmosis compounds

Key words: malaria, toxoplasmosis, phenolic oxidation, hypervalent iodine (III) reagents, cascades and tandem reactions, radical reactions.

Abstract:

Malaria is the more deadly parasitic disease, affecting 3.3 billion people (half of the world population). In 2010, the number of deaths due to malaria was estimated at 655,000, of which 91% of cases for the African continent. Pregnant women and children under 5 years (86% of deaths) are the most vulnerable. For African countries, malaria is not only a disease due to poverty, it is also the cause of the poverty. Due to this serious problem, it is urgent to find new effective treatments accessible to affected populations. Toxoplasmosis is a parasitic disease that affects mainly the industrialized countries (50% of the French population). This parasitosis is termed opportunistic disease because it can be dangerous for pregnant women and immunocompromised patients (people with AIDS or who have undergone organ transplantation).

Parasites responsible of malaria (*P. falciparum*) and toxoplasmosis (*T. gondii*) belong to the same family of apicomplexan, which are unicellular organisms. To develop new antimalarial and antitoxoplasmosis compounds, we found inspiration from natural products: aculeatins and cyclopeptide analogues of FR235222. To optimize antiparasitic properties of these natural products, we have developed short synthetic methods. New analogues of aculeatin were obtained by using an approach involving cascade and tandem phenolic oxidative reactions, induced by hypervalent iodine (III) reagents. Radical chemistry with xanthates and thioesters allowed us to obtain a great diversity of cyclopeptides analogue of FR235222. The antiparasitic activities of various analogs obtained were evaluated, and some has reached nanomolar efficacy.